

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1917-1918

N° 3

LE SOUFRE URINAIRE
ÉTUDE DOSIMÉTRIQUE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le

PAR

Lucien CORDIER

Pharmacien de 1^{re} classe,
Licencié ès Sciences.

JURY { **MM. GRIMBERT**, Président.
LEBEAU, Professeur.
GUERBET, Agrégé.

ÉVREUX
IMPRIMERIE CH. HÉRISSEY

4, RUE DE LA BANQUE

1917

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1917-1918

N° 3

LE SOUFRE URINAIRE

ÉTUDE DOSIMÉTRIQUE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le

PAR

Lucien CORDIER

Pharmacien de 1^{re} classe,
Licencié ès Sciences.

JURY {

MM. GRIMBERT, Président.
LEBEAU, Professeur.
GUERBET, Agrégé.



ÉVREUX

IMPRIMERIE CH. HÉRISSEY

4, RUE DE LA BANQUE

1917

PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. H. GAUTIER, Directeur, *, $\odot$ I.
BOURQUELOT, Assesseur, *, $\odot$ I.
G. DURSENT, Secrétaire, $\odot$ I.

PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut,
O. *, $\odot$ I. Botanique générale.
VILLIERS, *, $\odot$ I. Chimie analytique.
BOURQUELOT, *, $\odot$ I. Pharmacie galénique.
H. GAUTIER, *, $\odot$ I. Chimie minérale.
RADAIS, *, $\odot$ I. Cryptogamie.
BEHAL, O. *, $\odot$ I. Chimie organique.
PERROT, *, $\odot$ I. Matière médicale.
COUTIÈRE, *, $\odot$ I. Zoologie.
BERTHELOT, $\odot$ I. Physique.
GRIMBERT, *, $\odot$ I. Chimie biologique.
X. Pharmacie chimique.
LEBEAU, *, $\odot$ I. Toxicologie.
DELÉPINE, $\odot$ I. Hydrologie et Hygiène

Directeur honoraire : M. GUIGNARD, O. *, $\odot$ I.
Professeur honoraire : M. BOUCHARDAT, O. *, $\odot$ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. GUERBET, $\odot$ I. Minéralogie.
MARC HONNORAT, $\odot$ I. Législation et Dèontologie pharmaceutiques.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. GUERBET, $\odot$ I.	MM. DAMIENS.	MM. GORIS, $\odot$ I.
VALEUR, *, $\odot$ I.	TASSILLY, $\odot$ I.	LAUNOY.
BOUGAULT, $\odot$ I.	GUÉRIN, $\odot$ I.	HÉRISSEY, $\odot$ I.
SOMMELET, $\odot$ I.	LUTZ, $\odot$ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, $\odot$ I. Chimie générale.
COUSIN, $\odot$ I. Chimie analytique.
SOUÈGES, $\odot$ A. Micrographie.
MOURLOT, $\odot$ I. Physique.
BARTHELAT, *, $\odot$ I. Microbiologie.
JAVILLIER, $\odot$ I. Travaux généraux de
4^e année.

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. JAVILLIER, $\odot$ I.
Bibliothécaire en chef : M. DORVEAUX, $\odot$ I.

A MON PÈRE

A MA MÈRE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GRIMBERT

Membre de l'Académie de Médecine,
Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux
de Paris.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A LA MÉMOIRE

DE

MONSIEUR LAFONT

Pharmacien en chef des Hôpitaux de Paris.

A MONSIEUR LE DOCTEUR MEILLÈRE

Membre de l'Académie de Médecine,
Pharmacien en chef des Hôpitaux de Paris.

Hommage de profonde reconnaissance.

LE SOUFRE URINAIRE

ÉTUDE DOSIMÉTRIQUE

INTRODUCTION

Le dosage du soufre urinaire, sous ses différentes formes, n'est encore que relativement peu usité dans les laboratoires cliniques. Il y a là une lacune imputable surtout à la longueur, ou à l'imperfection des méthodes cliniques utilisées pour ce dosage l'importance clinique de l'élimination soufrée étant à peu près comparable à celle de l'élimination uréique.

L'étude des variations du rapport du soufre acide au soufre total, appelé encore coefficient d'oxydation du soufre par le professeur Robin, montre en effet que la valeur de ce rapport est constamment proportionnelle à l'activité hépatique ; on pourrait donc aussi le nommer : coefficient de l'activité hépatique (Robin).

D'autre part, il a été démontré que l'augmentation du soufre, et en particulier du soufre neutre, est corrélative de l'état de désintégration organique des tissus (Weiss).

Nous verrons, ici même, que le chiffre des sulfo-éthers varie généralement dans le même sens que l'intensité des fermentations intestinales.

Les enseignements à tirer, au point de vue médical, de l'évaluation des différentes variétés du soufre urinaire, ne sont donc pas à dédaigner.

Il faut cependant reconnaître que, jusqu'à ces dernières

années, l'absence à peu près complète de méthodes réellement rapides et précises, a motivé l'abandon partiel de cette étude.

Récemment, Gauvin et Skarzinski ont substitué au long et fastidieux dosage gravimétrique — le seul qui fût alors pratiqué dans les laboratoires, étant donnée la précision qu'il offrait — une technique qui, empruntant aux méthodes volumétriques leur facilité d'exécution et leur rapidité, est d'une exactitude suffisante pour les besoins de la pratique.

Ayant eu l'occasion de vérifier ce procédé, sur des liquides synthétiques, puis sur l'urine elle-même, nous en avons conclu que les résultats obtenus sont, non seulement parfaitement acceptables pour un dosage biologique, mais qu'ils possèdent une exactitude semblable à celle que fournit le dosage pondéral des sulfates.

Nous avons alors comparé les valeurs respectives de la méthode benzidinique, dont nous venons de parler, et des autres méthodes volumétriques proposées jusqu'à ce jour pour le dosage de l'acide sulfurique, et en particulier des sulfates métalliques dans l'urine; nous avons mis au point celles dont l'emploi nous paraissait le plus fondé pour le cas qui nous occupe; nous avons contrôlé les résultats fournis par l'hydrolyse des sulfo-conjugués; nous avons étudié, en vue du dosage du soufre total, la question de la destruction des matières organiques dont, parmi les nombreux procédés indiqués par les auteurs, certains ne peuvent convenir, étant d'une réalisation, ou trop lente, ou dangereuse, d'autres parce qu'ils ne donnent qu'une oxydation incomplète des éléments de l'urine. Nous avons enfin proposé des techniques nouvelles, après en avoir soigneusement vérifié la précision.

La science médicale a besoin, pour compléter son diagnostic, de contre-épreuves urologiques rapides. Le but de

ce travail a été, dans une sphère limitée, de dégager de trop nombreuses techniques, celles que nous pensons lui être les mieux appropriées, tout en étant d'une certitude absolue au point de vue des résultats. Nous espérons y avoir réussi.

APERÇU DE SÉMIOLOGIE DU SOUFRE URINAIRE

Formes du soufre dans l'urine.

Toutes les formes du soufre urinaire peuvent être classées en deux grands groupes parfaitement distincts¹.

A la classification allemande de SALKOWSKI, comprenant le *soufre acide* (dont les sulfates et phénylsulfates), et le *soufre neutre*, l'École française, avec LÉPINE, GUÉRIN et FLAVARD, a substitué la suivante, établie parallèlement, sur une base différente qui est la résistance des composés sulfurés aux agents d'oxydation. Elle comprend :

1° *Le soufre complètement oxydé* : sulfates et phénylsulfates (c'est le soufre acide de SALKOWSKI) ;

2° *Le soufre incomplètement oxydé* (correspondant au soufre neutre), dont la nouvelle classification fait deux variétés : *soufre facilement oxydable* (cystine, sulfocyanures) ; *soufre difficilement oxydable* (taurine) ; ceci établi en se basant sur l'action d'un mélange de chlorate de potasse et d'acide chlorhydrique ou de brome en excès.

Parmi les constituants du soufre incomplètement oxydé, on a indiqué, sans en démontrer toujours la présence, les composés qui suivent :

1° Des sulfocyanures existant, mais en quantité très minime dans l'urine normale² ;

1. Dr H. MOREIGNE. Etude sur les méthodes de dosage de quelques éléments importants de l'urine et principaux rapports urinaires, p. 166. Paris, Steinheil, édit., 1895.

2. On sait que le sulfocyanate d'ammoniaque, à 170°, et l'isosulfocyanate, en

2° Des composés de l'acide hyposulfureux, constatés seulement une fois par Strumpell (?);

3° De la cystine ;

4° De la taurine, éliminée probablement sous la forme d'une urée substituée, l'acide taurocarbamique (?), par union avec l'acide cyanique formé dans l'organisme ¹;

5° Des corps à fonctions alcaloïdiques.

Etc...

Métabolisme du soufre dans l'organisme.

La première notion qui s'impose à l'esprit, dans l'étude de la sémiologie d'un élément biologique, est la connaissance des transformations de cet élément au cours de l'assimilation et de la désassimilation organiques. Comment, et sous quelle forme, l'organisme l'emprunte-t-il au milieu extérieur, et par quel processus l'amène-t-il au stade final que l'on retrouve dans l'examen de la sécrétion urinaire? La théorie généralement adoptée est la suivante, en tenant compte des phases d'oxydation :

1° ORIGINE DES SULFATES MÉTALLIQUES. — *a*) Pour la majeure partie, ils proviennent du soufre des albumines alimentaires et tissulaires, se désintégrant presque entièrement en cystine, laquelle s'oxyde finalement jusqu'au terme acide sulfurique, que les bases de l'alimentationaturent au fur et à mesure de sa formation ; *b*) Une faible portion provient directement des sulfates préformés de l'alimentation.

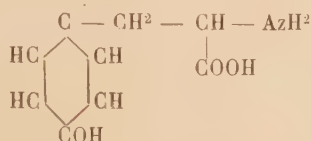
2° ORIGINE DES SULFO-CONJUGUÉS. — Les phases d'oxydation conduisant aux sulfates se répètent ici, mais un dixième environ de l'acide sulfurique global, qui ne s'est pas com-

solution aqueuse, donnent naissance, par transformation isomérique, à la sulfo-urée, dont la présence a été signalée dans l'urine.

1. BEAUNIS. *Physiol. humaine*, 1, p. 306, Baillière, édit., 1888.

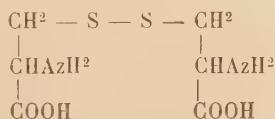
biné aux bases de l'économie, vient s'unir aux phénols issus de la désintégration des albumines, pour constituer les sulfo-éthers.

Quant aux phénols dont nous venons de parler, ils seraient le résultat de la dégradation des produits aromatiques provenant des matières albuminoïdes, produits qui appartiennent aux groupes de la tyrosine, ou paraoxyphénylalanine :



de la phénylalanine, ou acide α -aminopropionique; et du tryptophane, ou acide indolaminocaproïque. Il y aurait, dans cette décomposition, des substances intermédiaires constituées principalement par des oxacides aromatiques tels que l'acide paraoxyphénylacétique, l'acide paraoxybenzoïque, etc... (BAUMANN).

3^o ORIGINE DU SOUFRE INCOMPLÈTEMENT OXYDÉ. — La plus grosse partie est directement originaire des substances albuminoïdes; c'est la cystine :



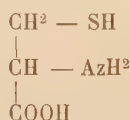
qui dérive d'un acide aminé, l'alanine :



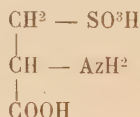
On peut, d'ailleurs, établir un rapprochement entre les modes de dédoublement des albumines : 1^o dans les tissus; 2^o lorsqu'on procède à l'hydrolyse *in vitro* desdites albumines, sous l'action des acides. Dans l'un et l'autre cas, il se forme des acides aminés comme termes ultimes de la réaction.

Alors que les sulfates minéraux proviendraient en majeure partie des albumines alimentaires (*déchets exogènes*), le soufre neutre proviendrait des albumines tissulaires, par usure des tissus de l'organisme (*déchets endogènes*) (FOULIN).

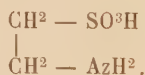
Une autre partie du soufre incomplètement oxydé, la taurine, provient de la résorption des produits biliaires. On sait, d'autre part, qu'au niveau du foie, la cystine est transformée en taurine ou acide amino-éthyl-sulfonique : $\text{AzH}^2 - \text{CH}^2 - \text{CH}^2 - \text{SO}^3\text{H}$; *Friedmann* a réalisé cette transformation *in vitro*, en partant de la cystéine



(dont la cystine est le disulfure); par oxydation il obtint l'acide cystéique



et il aboutit enfin à la taurine



Nous citerons enfin les acides oxyprotéiques¹, qui constitueraient un dernier facteur du soufre neutre urinaire (?).

Rôle des organes et des milieux de l'économie.

Nous venons de voir que le foie joue un rôle important dans l'excrétion du soufre incomplètement oxydé. Pour les

1. Quant aux acides protéiques, que l'on peut obtenir en faisant agir les alcalis sur les matières protéiques, on leur attribue la formule générale suivante : $\text{C}_n\text{H}_{2n-2}\text{Az}^2\text{O}_6$, n'indiquant pas de soufre dans la molécule. BERTHELOT et JUNGLEISCH, 1904. *Tr. Ch. org.*, t. II, p. 4276.

sulfo-éthers, les avis sont partagés ; les uns¹ situent leur lieu de formation dans l'intestin ; d'autres², au contraire, ne l'admettent que dans l'intimité même des tissus, ou au niveau du foie³ ; alors que les premiers voient dans la synthèse de ces corps par l'organisme une manifestation de l'activité bactérienne à l'intérieur du tube digestif, certains de leurs contradicteurs ne croient pas à la nécessité d'une intervention microbienne pour la genèse de ces dérivés. Quant au soufre minéral, il est le résultat des réactions de combustion opérées, au cours de la circulation, aux dépens des matières organiques soufrées, et des aliments.

Élimination physiologique et pathologique.

Ces notions vont nous permettre d'examiner les relations du soufre urinaire, sous ses diverses formes, avec l'état de santé de l'individu, de même qu'avec différents états pathologiques.

ÉLIMINATION A L'ÉTAT PHYSIOLOGIQUE. — L'acide sulfurique qui, selon Robin, constitue un pourcentage de 13 parties, 29 des matières inorganiques de l'urine, s'élimine si l'on considère le soufre total, dans la proportion, suivant les auteurs, de 2^{sr},5 à 2^{sr},7⁴, et même 3^{sr},34⁵ par vingt-quatre heures, pour un adulte bien portant (résultats exprimés en SO³).

Le soufre complètement oxydé entre pour 80 à 90 centièmes du soufre total (soufre des sulfates : 72 à 81 p. 100. Soufre des sulfo-éthers : 8 à 9 p. 100), le reste (soit 10 à

1. A. ROBIN. *Bull. Soc. méd. hôpitaux*, 1903, n° 26, p. 833. R. BRUNON et M. GUERBET. *Presse méd.*, n° 50, 10 juillet 1907 ; n° 83, 21 octobre 1908.

2. LABBÉ et VITRY. *Soc. de biol.*, 1906, p. 686 ; *Rev. de Méd.*, 1906, 10 août *Presse méd.*, 1906, p. 678.

3. GLEY. *Physiologie*, 1910.

4. A. ROBIN. *Bull. Soc. méd. hôpitaux*, 1903, n° 26, p. 833.

5. Dr GEORGES VOIRIN. Thèse Nancy, 1894.

20 centièmes) étant fourni par le soufre incomplètement oxydé. Les sulfo-éthers forment donc sensiblement la dixième partie du soufre complètement oxydé¹.

ÉLIMINATION A L'ÉTAT PATHOLOGIQUE. — 1° *Signification du soufre total et des sulfates*. — Le soufre total présente, avec l'azote total, un parallélisme d'élimination plus constant que chez les autres éléments urinaires. Ils trouvent, en effet, une origine commune dans les substances protéiques (selon LAMBLING, il passe dans l'urine 0^{gr},025 de SO¹H² par gramme d'albumine consommée), et leurs variations permettent d'évaluer assez exactement l'état de désintégration organique des tissus. Cette conclusion n'est mise en défaut que dans le cas d'ingestion directe de sulfates minéraux, ou sulfates préformés, qui traversent l'organisme sans se transformer.

Le soufre complètement oxydé (somme des sulfates et des sulfo-éthers) subit généralement les mêmes variations que le soufre total ; de plus, un régime fortement carné en augmente le chiffre alors qu'un régime végétal le fait diminuer : une ration d'entretien, pauvre en azote, dit Folin, conduit à une diminution considérable des sulfates minéraux en valeur absolue et en valeur relative, tandis que le soufre neutre est constant en valeur absolue (c'est-à-dire indépendant de l'alimentation) et augmente en valeur relative ; après une alimentation riche en viande, on trouve dans les sédiments urinaires des cristaux de sulfate de chaux.

D'autre part, on peut dire que le poids de soufre total éliminé est proportionnel à la durée de la maladie : ainsi, plus l'évolution fébrile est courte, plus la quantité de soufre

1. Voici, à ce propos, le détail des chiffres fournis par ROBIN :

	ÉLIMINATION par 24 heures.	ÉLIMINATION par kilogramme.	
Soufre total. . .	2 gr. 5 à 2 gr. 7	0 gr. 038 à 0 gr. 041	
Sulfates alcalins .	2 — 4 à 2 — 2	0 — 032 à 0 — 034	} Soufre acide : 0 gr. 034 à 0 gr. 036 par kilogr.
Sulfo-conjugués .	0 — 130 à 0 — 160	0 — 0015 à 0 — 00252	
Soufre neutre . .	0 — 280 à 0 — 320	0 — 0043 à 0 — 0049	

éliminée dans les vingt-quatre heures est considérable. Le contraire a lieu dans une pyrexie à long cycle fébrile, telle que la fièvre typhoïde, où l'on admet une diminution des oxydations¹.

On observe généralement une augmentation du soufre total dans les affections suivantes : Rhumatisme articulaire (à l'état de convalescence), diabète sucré, diabète insipide, diabète azoturique, diabète phosphaturique et pneumonie (à la période d'état). Les sulfates augmentent dans les congestions ou après absorption de soufre, de sulfures, d'hyposulfites et de sulfates ; ils diminuent, au contraire, dans les néphrites chroniques, dans l'anémie, chez les enfants rachitiques, chez les arthritiques, chez les gouteux², et chez les sujets en état de jeûne (G. Gérard).

2° *Signification des sulfo-conjugués.* — Les sulfo-conjugués, dont nous avons déjà eu l'occasion de parler, résultent de l'union de l'acide sulfurique avec les phénols provenant de la désintégration des albumines ; dans l'urine, on les trouve à l'état de sels alcalins ; ce sont : le phénylsulfate, l'indoxylsulfate et le paracrésylsulfate de potassium, ou de sodium.

Les divers auteurs sont d'accord pour admettre, chez l'individu normal, le parallélisme d'élimination des sulfo-éthers et de l'azote. H. LABBÉ et G. VITRY³ ont soumis un sujet doué d'un bon fonctionnement gastro-intestinal à des régimes variés et rigoureusement connus et dosés, et ils ont interprété leurs résultats au moyen d'une courbe construite avec les chiffres de sulfo-éthers urinaires en abscisses (évalués en centigrammes) et ceux de l'albumine alimentaire en ordonnées (évalués en grammes). Ils ont obtenu ainsi une courbe

1. Voir : Dr H. MOREIGNE. *Méth. de Dos. de quelq. élém. imp. de l'urine*, p. 193, 1895, Steinheil, édit., Paris ; Dr G. VOIRIN. Thèse, Nancy, 1894.

2. OECHSNER DE CONINCK. *Soc. de Biologie*, I, 30, 5 et 12 mars 1898, p. 264-298.

3. LABBÉ et VITRY. La signification des sulfo-éthers urinaires, *Presse médic.* n° 85, 24 octobre 1906, p. 678.

nettement ascendante, et en ont tiré cette conclusion que : *La quantité des sulfo-éthers éliminés quotidiennement par l'urine est sensiblement proportionnelle à la quantité d'albumine ingérée dans le régime alimentaire* ; en faisant toutefois cette réserve que le parallélisme atteint une limite, au point même où la quantité d'albumine ingérée devient inassimilable par l'organisme, et ils ont modifié, ou plutôt complété le dernier point de leur assertion en disant : *La quantité des sulfo-éthers éliminés quotidiennement par l'urine est proportionnelle à la quantité, et, pour une certaine part, à la qualité de l'albumine assimilée.*

MAURICE GUERBET et RAOUL BRUNON¹ sont sensiblement du même avis et, comme pratiquement, il est impossible de connaître exactement la quantité d'azote albuminoïde de l'alimentation d'un malade, ils traduisent l'expression de ce parallélisme en instituant le rapport des sulfo-éthers à l'azote total urinaire, lequel représente à peu près intégralement la somme des matières albuminoïdes ingérées. L'un d'eux² a vérifié ce fait par des expériences sur des individus sains, et en a conclu que ce rapport, chez l'homme normal, quelle que soit son alimentation (régime carné, mixte, lacté ou végétarien) *est rarement inférieur à 1 p. 100, et ne dépasse pas 1,40 p. 100.*

Poursuivant leurs recherches sur des malades, ils en ont conclu que, dans les cas d'intoxication gastro-intestinale, ce rapport devenait supérieur à 1,40 p. 100, et pouvait même s'élever jusqu'à 7,6 p. 100, chiffre maximum observé, et que le régime végétal, ou lacté, ou ovo-lacto-végétarien, combiné aux médications dites antiseptiques (ferments lactiques, laxatifs) pouvait l'abaisser et amener une amélioration du sujet traité.

1. BRUNON et GUERBET. Les sulfo-éthers dans l'intoxication d'origine gastro-intestinale. *Presse médicale*, n° 55, 10 juillet 1907.

2. M. GUERBET. Sur les sulfo-éthers urinaires. *Comptes rendus Soc. biologie*, 16 février 1907, p. 252.

Ces observations, tendant à faire admettre la possibilité d'apprécier les fermentations anormales de l'intestin au moyen du dosage des sulfo-éthers de l'urine¹, LABBÉ et VITRY² ont formulé certaines critiques vis-à-vis de cette conception, faisant remarquer que, dans le cas de jeûne, où la putréfaction intestinale est réduite au minimum, faute d'aliments, il subsiste encore des sulfo-éthers³. Selon eux, le lieu de formation des sulfo-éthers se trouverait, en effet, dans l'intimité même des tissus.

Ni les uns, ni les autres de ces auteurs n'ont affirmé finalement que, du taux d'élimination des sulfo-éthers urinaires, l'on puisse rigoureusement déduire l'intensité des fermentations intestinales⁴.

DESGREZ et AYRIGNAC, ainsi que GLEY,⁵ voient cependant une corrélation plus étroite entre le rapport $\frac{\text{soufre conjugué}}{\text{soufre total}}$ et les fermentations intestinales.

LABBÉ et VITRY⁶ ont, en outre, émis l'opinion que le chiffre des sulfo-éthers est en rapport avec l'azote alimentaire, même dans les cas pathologiques. Ce à quoi BRUNON et GUERBET⁶ ont répondu en montrant que « chez un même sujet, le chiffre des sulfo-éthers peut diminuer de moitié (0^{gr},254 à 0^{gr},112) alors que la quantité d'azote total ne change pas (8^{gr},10 et 8^{gr},20) ».

LAMBLING, reprenant l'étude critique des variations des produits aromatiques de l'urine, comparativement avec les variations des putréfactions intestinales, fait observer que,

1. A. ROBIN était du même avis. Voir *Bull. Soc. méd. hóp.*, 16 juillet 1903, p. 833.

2. LABBÉ et VITRY. *Presse médicale*, 24 octobre 1906 et 15 août 1908.

3. Mais LAMBLING mentionne, à ce propos, que, chez les animaux à jeun, les putréfactions post-digestives se continuent aux dépens des sécrétions digestives, ou du sang que fournissent les hémorragies intestinales, fréquentes chez ces animaux.

4 et 6. R. BRUNON et M. GUERBET. Les sulfo-éthers urinaires dans l'intoxication d'origine gastro-intestinale. *Presse médicale*, n° 85, 21 octobre 1908.

5. LABBÉ et VITRY. *Presse médicale*, 15 août 1908.

s'il existe une relation évidente entre l'accroissement des putréfactions intestinales et celui de l'excrétion des sulfo-éthers urinaires « ce signe perd une grande partie de sa valeur » par ce fait qu'à l'état normal, le taux d'excrétion varie passablement, et qu'ensuite une partie des produits aromatiques venant des putréfactions intestinales, passe dans les matières fécales, l'autre partie, absorbée par l'intestin, est *dans des proportions variables*, soit excrétée sous différentes formes par l'urine, soit détruite par l'organisme. La seule conclusion que l'on puisse tirer de l'élimination des sulfo-éthers urinaires n'est donc qu'« un signe de probabilité ¹ ».

De l'ensemble de ces discussions, on peut retenir ceci : *A l'état de santé, il y a constance du rapport des sulfo-éthers à l'azote total ; ce rapport est inférieur à 1,40 p. 100. Dans certains cas d'intoxication gastro-intestinale déjà soupçonnés par la clinique, l'augmentation de ce rapport peut être considérée comme témoin de l'affection pronostiquée, et servir de contre-épreuve au diagnostic de la maladie².*

LABBÉ et VITRY ³ ont démontré, d'autre part, que l'alimentation par les graisses et les féculents était sans action sur l'élimination des sulfo-éthers.

GALLO DE TOMMASI ⁴, étudiant l'élimination des sulfo-conjugés de la série aromatique chez les enfants, en a tiré les conclusions suivantes, que nous reproduisons sous toutes réserves, l'auteur ayant employé, dans ses dosages, la méthode peu recommandable de SALKOWSKI :

a) La quantité totale des sulfo-conjugés, éliminés dans les urines des vingt-quatre heures, en conditions physiolo-

1. LAMBLING. *Précis de Biochimie*, p. 217, Masson, édit., Paris, 1941.

2. R. BRUNON et GURRBET. *Presse médicale*, 21 octobre 1908.

3. LABBÉ et VITRY. La signification des sulfo-éthers urinaires. *Presse médicale*, 24 octobre 1906.

4. GALLO DE TOMMASI (de Naples). XII^e congrès intern. de médecine. Paris, 1900. D'après *Bull. Soc. pharm.*, 1900, P. 542.

giques, et à la suite d'une alimentation usuelle, varie beaucoup, non seulement d'un enfant à l'autre du même âge, mais aussi chez l'enfant même, d'un jour à l'autre. Elle n'est jamais directement proportionnelle à son âge.

b) D'après cette variabilité assez considérable, la quantité moyenne journalière n'a pas de valeur pathogénique ou diagnostique absolue. Néanmoins, chez les enfants de quatre à six ans, la moyenne serait de 0^{sr},078¹, avec minimum de 0^{sr},037 et maximum de 0^r,147.

c) Le régime lacté en diminue la proportion jusqu'à 0^{sr},0558 et 0^{sr},0078. Le régime carné en provoque l'augmentation.

d) Le calomel, pris à la dose de 6 à 9 centigrammes par jour, en trois fois, réduit les sulfo-conjugués de 1 à 3 centigrammes par vingt-quatre heures².

e) Comme modifications pathologiques, on observe une augmentation dans la tuberculose osseuse péritonéale et dans la rougeole. Il ne se passe rien de remarquable, par contre, dans la paralysie infantile, néphrite chronique, bronchite chronique, cirrhose hypertrophique du foie.

Les sulfo-conjugués augmentent dans la période d'état de la fièvre typhoïde; dans l'épilepsie; dans l'ictère par rétention, et, à ce propos, LABBÉ et VITRY³ ont constaté que, toutes les fois que, par suite d'obstruction des voies biliaires, la bile ne passait plus dans l'intestin, mais se retrouvait, au contraire, dans l'urine, la quantité de sulfo-éthers urinaires s'élevait considérablement; quand la bile reprenait son cours normal, le chiffre des sulfo-éthers retombait à celui que faisait prévoir l'alimentation albuminoïde du sujet.

1. Nous ne reproduisons qu'à titre purement documentaire ce chiffre *moyen*, dont la précision nous paraît exagérée.

2. La diminution constatée nous paraît bien faible pour qu'on en puisse tirer une conclusion absolue, quant à l'effet du calomel absorbé.

3. LABBÉ et VITRY. *Soc. de biologie*, 1907, p. 184.

Il y a aussi augmentation lors des suppurations abondantes, et dans le cas d'ingestion de corps à fonction phénolique.

Inversement, on observe une diminution des sulfo-conjugués urinaires dans les cas d'insuffisance pancréatique¹.

OECHSNER DE CONINCK², ayant étudié l'élimination des sulfo-éthers chez les arthritiques, rhumatisants et gouteux, n'aboutit à aucune conclusion, ayant trouvé de fortes variations en sens contraires, et dont il n'explique pas l'origine, pour des sujets d'âge mûr; quant aux sujets jeunes, dit-il, ils accusent des chiffres relativement peu élevés.

~~2^e Signification du soufre incomplètement oxydé.~~
3^e Signification du soufre incomplètement oxydé. —

Le poids du soufre incomplètement oxydé, ou soufre neutre, est évalué au centième de celui de l'azote de l'urée, excrété à l'état de santé.

Il augmente après la ligature du canal cholédoque, ou lorsqu'on injecte de l'eau, sous pression, dans la vésicule biliaire³.

L'augmentation du soufre neutre a été constatée dans les affections liées à une désagrégation excessive des protéiques, dans beaucoup de maladies microbiennes (tuberculose, typhoïde, pneumonie) (VOIRIN), dans les cas de carcinome.

En grosse quantité, il indique une diminution de l'activité hépatique (A. ROBIN).

Alors qu'à l'état normal, ce soufre incomplètement oxydé est inférieur à 20 p. 100 du soufre total, LÉPINE et FLAVARD⁴ ont pu constater que, dans bon nombre de cas d'ictère, la proportion s'est élevée à 25 p. 100, et jusqu'à plus de 40 p. 100 du soufre total, le chiffre des sulfates n'étant d'ailleurs pas abaissé par rapport à celui de l'azote. Dans plu-

1. LÉPINE. *Semaine médicale*, 1^{er} avril 1908.

2. OECHSNER DE CONINCK. *Note à la Soc. de biologie*, 12 mars 1898, p. 298.

3. Dr G. VOIRIN. Thèse, Nancy, 1894.

4. LÉPINE et FLAVARD. *Acad. des Sciences*, séances des 20-25 décembre 1888.

sieurs cas de cirrhose atrophique, ils ont trouvé également un excès de soufre incomplètement oxydé, mais n'atteignant pas, en général, la proportion de 25 p. 100 du soufre total. Pour cette raison, et pour d'autres, les auteurs pensent qu'un obstacle à l'écoulement de la bile est une condition qui favorise la production du soufre neutre.

Au contraire, dans les cas où la sécrétion de la bile est réduite au minimum, son excrétion restant libre, il semble y avoir diminution, dans l'urine, du soufre non oxydé, et augmentation, par rapport à l'azote, de l'acide sulfurique préexistant.

ROBIN a observé que, sur 100 parties de soufre éliminées, on en compte 20 de soufre incomplètement oxydé dans la cirrhose avec hypofonction hépatique. Dans le diabète avec hyperfonction, au contraire, il n'y en a plus que 2 à 5 parties¹.

Selon SALOMON et SAXL, la présence du soufre neutre dans l'urine serait liée à une affection cancéreuse; MARENDUZZO² y verrait moins un indice de spécificité de cette affection qu'une explication de l'état de cachexie de l'organisme.

La question a été posée de savoir si le soufre dit « neutre » existe normalement dans l'urine. MONFET³ a cru ne voir dans cette variété qu'une partie des sulfo-conjugués, constituée par le groupe dérivant du phénol et du crésol; et il a prétendu avoir démontré l'identité du soi-disant soufre-neutre avec le phénylsulfate de synthèse, indécomposable par les acides minéraux les plus énergiques, quelle que soit la durée de la chauffe, décomposable seulement par l'action combinée d'un acide fort et d'un oxydant (HCl et

1. A. ROBIN. *Journal des praticiens*, 14 janvier 1902.

2. MARENDUZZO L. La nuova reazione sullo zolfo neutro orinario di SALOMON e SAXL. *Nuova rivista Clinico-terapeutico*. Anno XVI, p. 489, d'après la *Riforma medica*, 1913.

3. MONFET. *Acad. des Sc.*, 10 août 1903, *Soc. de biol.*, n° 55, 17 octobre 1903, p. 1169.

ClO^3K par exemple). Les sulfo-conjugués hydrolysables en présence d'un acide minéral seul seraient représentés par le groupe indol-scatol, soit environ le tiers des sulfo-éthers totaux.

Or, MAILLARD¹ a remis au point cette question en faisant observer à MONFET que, d'abord, des composés tels que l'indol et le scatol, ne possédant pas d'oxyhydriles dans la molécule, sont incapables de donner naissance à des éthers sulfuriques comparables à ceux des phénols (on peut les comparer, non pas au phénol et aux crésols, mais bien au benzène et toluène eux-mêmes), « tout au plus, fonctionnant basiquement par leur azote, pourraient-ils donner des sels d'alcaloïdes appartenant à un groupe très différent.

Ensuite MONFET a confondu le phénylsulfate de potassium $[\text{C}^6\text{H}^5 - \text{O} - \text{SO}^3.\text{OK}]$, type des sulfo-conjugués urinaires,

avec le paraphénolsulfonate $\left[\text{C}^6\text{H}^4 \begin{array}{l} \text{OH (1)} \\ \text{SO}^3.\text{OK (4)} \end{array} \right]$, que l'on

obtient presque exclusivement à chaud (avec des traces de l'ortho) en faisant agir de l'acide sulfurique pur sur du phénol cristallisé et qui est encore inconnu en chimie biologique. Il a ainsi reporté sur le phénylsulfate, en réalité décomposable à la chaleur par les acides, les propriétés, non identiques, du phénolsulfonate. De là vient l'erreur commise par cet auteur.

Rapports urinaires concernant le soufre.

Les variations du soufre urinaire étant liées assez étroitement à celles de certains autres éléments de l'urine, du moins dans les cas physiologiques, il va de soi que certaines indications pourront être fournies au diagnostic par l'examen des rapports urinaires où figure le soufre.

1. L. MAILLARD. Sur la question de l'indoxyle et des sulfo-conjugués de l'urine. Réponse à M. Monfet. *Bull. Soc. biol.*, n° 55, p. 1508, 1903.

Les principaux sont les suivants¹ :

Moyenne.

$\frac{\text{Soufre total}}{\text{Azote total}}$	, ou coefficient de l'activité biliaire. .	18,8 à 20 p. 100
$\frac{\text{Soufre acide}}{\text{Soufre total}}$	, ou coefficient de LÉPINE, ou de l'oxyda- tion du soufre de ROBIN, ou de l'activité hépatique.	88 à 90 —
$\frac{\text{Soufre conjugué}}{\text{Azote total}}$	, ou coefficient de BRUNON et GUERBET, ou des fermentations intestinales.	1 à 1,40 —
$\frac{\text{Soufre conjugué}}{\text{Soufre total}}$	, ou coefficient de BAUMANN ² , ou des fermentations putrides de ROBIN.	5 à 6 —
$\frac{\text{Soufre neutre}}{\text{Soufre total}}$	, ou coefficient de SALKOWSKI	13,3 p. 100 environ.

D'autres coefficients, quoique moins importants, peuvent donner d'utiles indications, soit que l'on rapporte le soufre total à l'azote uréique, ou bien encore les soufres acide et neutre aux azotes total et uréique.

Voici, à titre documentaire, les chiffres recueillis par MOREIGNE³ et complétés par nous :

	D'APRÈS					
	SALKOWSKI	STADTHAGEN	LÉPINE et GUÉRIN	BECK et BÉNÉDICT	VOIRIN	MOREIGNE
	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100
$\frac{\text{Soufre neutre}}{\text{Soufre total}}$. . .	16 à 17	14	20	16 18,3	17	19,71 15,52

1 et 3. Dr H. MOREIGNE. Méthodes de dosage de quelques éléments importants de l'urine et principaux rapports urinaires. Steinheil, édit., Paris, 1895.

2. D'après ROBIN, le véritable coefficient de Baumann serait : $\frac{\text{SO}^4\text{H}^2 \text{ conjugué}}{\text{SO}^4\text{H}^2 \text{ des sulfates}}$.
Bull. Soc. méd. hôpitaux, 1903, p. 83, note 1.

Sujets examinés. . . .	A	B
$\frac{\text{Soufre total}}{\text{Azote total}}$	p. 100 17,37	p. 100 17,047
$\frac{\text{Soufre total}}{\text{Azote uréique}}$	18,96	18,40
$\frac{\text{Soufre acide}}{\text{Azote total}}$	14,64	13,68
$\frac{\text{Soufre acide}}{\text{Azote uréique}}$	16,00	14,77
$\frac{\text{Soufre neutre}}{\text{Azote total}}$	2,68	3,36
$\frac{\text{Soufre neutre}}{\text{Azote uréique}}$	2,92	3,62

Nous avons déjà dit la valeur que l'on peut attacher à l'excrétion du soufre, par rapport à celle de l'azote : dans leur dosage comparatif, il sera aisé de se rendre compte de la désintégration organique des tissus. Cependant, s'il y a un obstacle au cours de la bile, comme dans l'ictère, une grande partie de l'acide sulfurique total est due au soufre neutre provenant de la taurine. S'il y a coïncidence de l'élévation du rapport avec l'augmentation du soufre neutre, et diminution du rapport $\frac{\text{soufre acide}}{\text{soufre total}}$, cela indique un obstacle à la formation ou au cours de la bile¹. Le Dr BRUNON estime, de son côté, que le rapport $\frac{\text{sulfo-éthers}}{\text{azote total}}$ croît dans l'insuffisance hépatique. Dans la cystinurie, il y a augmentation du rapport $\frac{\text{soufre neutre } 2}{\text{soufre total}}$. Il y a diminution du rapport $\frac{\text{soufre acide}}{\text{soufre total}}$ dans la scarlatine, la rougeole, le rachitisme, le rhumatisme, la goutte, l'arthritisme.

1. A. ROBIN. *Bull. Soc. médic. hôpitaux*, 1903, p. 833.

2. A. DESMOULIÈRES. *La Cystinurie*, p. 72, Paris, 1914, Levé, imprimeur.

Quant à la signification des rapports mentionnant l'augmentation relative du soufre des sulfo-conjugués, à propos des fermentations anormales de l'intestin, nous en avons déjà parlé précédemment : contentons-nous de rappeler qu'elle peut être utilisée à titre de *vérification* de l'état pathologique pronostiqué.

VALEUR CLINIQUE. — Tel est l'exposé sommaire des conclusions données, jusqu'à présent, au sujet des variations physiologiques et pathologiques des soufres urinaires. Si l'évaluation de chacun d'eux n'a pas toujours d'importance propre, elle en prend une si on les compare à d'autres éléments de l'urine. Mais, cette préoccupation n'a de valeur en soi que si, dans le cas présent, le laboratoire est susceptible de fournir à la clinique des moyens d'investigation rapides et précis.

C'est à la solution de cette question, encore mal élucidée, que s'attacheront nos recherches dans la suite de cette étude.

ORDRE ADOPTÉ POUR L'ÉTUDE DOSIMÉTRIQUE DU SOUFRE URINAIRE. — Nous examinerons successivement les questions suivantes :

I. *Des divers procédés usités pour le dosage de l'acide sulfurique.* — Description des procédés. Discussion. Application à l'urine. Procédés proposés. Résultats obtenus.

II. *De l'hydrolyse des sulfo-éthers de l'urine.* — Séparation des sulfates métalliques et des sulfo-éthers. Méthodes d'hydrolyse. Essais comparatifs. Conclusions.

III. *De la destruction des matières organiques de l'urine.* — Description des procédés. Discussion. Procédés proposés. Dosages comparatifs. Résultats obtenus.

DOSIMÉTRIE DU SOUFRE URINAIRE

I

DES DIVERS PROCÉDES USITÉS POUR LE DOSAGE DE L'ACIDE SULFURIQUE

Les diverses combinaisons du soufre pouvant toujours être ramenées à l'état de sulfure ou de sulfate, nous examinerons le dosage du soufre urinaire à l'état de sulfate, forme à laquelle on ramène le plus aisément les molécules sulfurées des liquides de l'économie.

Nous laisserons donc de côté le dosage à l'état de sulfure (d'AUGER et GABILLON)¹ dans lequel, en faisant agir l'acide iodhydrique sur l'acide sulfurique à doser, on libère un mélange de gaz : H^2S , PH^3 , IH , dont l'acide sulfhydrique est séparé et dosé à l'état de sulfure de zinc par l'iode et l'hyposulfite.

Parmi les principaux procédés indiqués pour le dosage des sulfates, nous citerons les suivants :

1° *Dosage pondéral*, à l'état de sulfate de baryte. Il y a également une méthode pondérale par combinaison à l'oxyde de plomb.

2° *Dosage physico-chimique* (DUTOIT) : précipitation par la

1. Comptes rendus Acad. Sc., 1914, p. 441.

baryte, terme de la réaction indiqué par la conductibilité électrique.

3° *Dosages volumétriques directs :*

a) A l'état de sulfate de plomb (LEVOL, PAPPENHEIM et SCHWARZ).

b) A l'état de sulfate de baryte (WILDENSTEIN) par une liqueur titrée de chlorure de baryum.

c) A l'état de carbonate de strontium (MOHR) qu'on dose par les procédés alcalimétriques connus.

d) A l'état de sulfate de benzidine (GAUVIN et SKARZINSKI).

e) A l'état de chromate (ANDREWS) par une solution chlorhydrique de chromate de baryum, et dosage du chromate alcalin formé par iodométrie.

4° *Dosages volumétriques par excès :* Ici, c'est l'excès de réactif (chlorure de baryum) que l'on dose :

a) A l'état de carbonate, en liqueur neutre (MOHR), par le mélange [carbonate d'ammoniaque + ammoniaque] que l'on évalue alcalimétriquement.

Ce procédé a donné lieu à des variantes selon :

α. AD. CLEMM, qui met un excès de carbonate de soude, correspondant exactement au sulfate cherché, et dosé alcalimétriquement.

β. SIDERSKI, qui emploie pour le dosage de l'excès de carbonate de soude ci-dessus une liqueur titrée de chlorure de baryum, en présence de phtaléine.

b) A l'état de chromate (WILDENSTEIN), par une liqueur titrée de chromate neutre de potassium.

WINDISH titre l'excès de chromate de potassium par l'acide arsénieux et l'iode.

Un certain nombre des méthodes ci-dessus indiquées ne conviennent pas au dosage des sulfates d'un liquide tel que l'urine, contenant en outre des chlorures, phosphates, oxalates, sels ammoniacaux, etc..., capables d'entrer en combi-

naison avec les réactifs qu'elles comportent, ou simplement, de nuire à l'intégralité des réactions obtenues.

Nous laisserons de côté la classique méthode pondérale, pour ne mentionner qu'une heureuse modification apportée par M. MEILLÈRE, et substituant aux longues filtrations des centrifugations, plus rapides.

Ce mode opératoire est particulièrement utile lorsqu'on doit faire le lavage de précipités très ténus, ayant tendance à traverser les filtres, comme c'est le cas pour le sulfate de baryte.

Dans des tubes à centrifuger, soigneusement tarés, s'effectuent ainsi les différentes phases d'un dosage gravimétrique : Par centrifugation, la précipitation a lieu sans chauffage préalable ou dépôt prolongé du liquide ; la liqueur surnageante est ensuite facilement décantée, puis on fait deux ou trois lavages et décantations successifs. On procède alors à la dessiccation du précipité (5 minutes à 150°) et à sa pesée dans le tube même¹.

La méthode de DUROIT, dont le terme de réaction est basé sur un principe physique, paraît pouvoir donner des résultats d'une exactitude remarquable. L'addition d'un sel de baryum à acide fort à une solution de sulfates provoque une réaction de précipitation que l'on peut traduire graphiquement par une courbe, en portant en abscisses les quantités de réactifs employées, et en ordonnées les conductibilités mesurées. L'expérience prouve que l'on obtient ainsi deux droites montantes dont le point de rencontre coïncide avec la fin de la précipitation des sulfates, et qui peut être apprécié à 1 p. 100 près. « En augmentant la précision des mesures et agissant sur beaucoup de liquide à analyser, l'erreur peut être ramenée à 1 p. 1000². » Comme le fait remarquer GAUVIN, la nécessité d'un matériel inexistant

1. *Bull. Soc. Chim.*, 1899, t. XXI, p. 513-515.

2. GAUVIN. *Bull. Sc. ph.*, juin 1914, p. 347.

dans les laboratoires d'analyses biologiques est de nature à faire abandonner cette méthode pour le soufre urinaire.

Les méthodes de LEVOL¹, PAPPENHEIM² et SCHWARZ³, précipitant directement SO_4H^2 par une dissolution titrée de plomb, ne peuvent non plus convenir, la présence des chlorures, et même des sels ammoniacaux⁴, en écartant l'emploi.

La méthode de WILDENSTEIN⁵, ne nécessitant qu'une manipulation extrêmement simple (dosage direct par une liqueur titrée de BaCl_2), mais obligeant à de nombreux tâtonnements, à cause de l'absence d'un indicateur net, ne paraît pas d'une exactitude suffisante. L'auteur a donné un dispositif commode, consistant en un appareil en verre, à siphon, muni d'un diaphragme, filtrant automatiquement le liquide et permettant ainsi de se rendre compte, à chaque instant, et sans difficulté, du point où en est l'opération⁶. On peut cependant lui reprocher l'incertitude résultant de l'observation du point neutre choisi comme terme de réaction (à la fin de la précipitation, l'ensemble chlorure alcalin-sulfate et chlorure de baryum pouvant être considéré comme dans un certain état d'équilibre, et un léger excès, soit de chlorure de baryum, soit de sulfate, pouvant le rompre et déposer encore un peu de sulfate de baryte), et ne permettant pas de calculer le poids de sulfate d'après la composition exacte de la dissolution de chlorure de baryum.

Parmi les méthodes au chromate, celle de WILDENSTEIN⁷,

1. GERHARDT et CHANCEL. *Anal. Chim. quant.*, 1875, p. 407. SILVA. *Anal. Chim.*, 1894, p. 289.

2. MOHR-CLASSEN. *Tr. d'anal. par la méth. titr.*, 3^e édit. fr., par L. Gautier, Savy, édit., Paris, 1888.

3. *Zeitschr. f. analyt. Ch.*, 1863, 2, p. 392.

4. FRESSENIUS. *Tr. anal. quant.*, 41, p. 470, Masson, édit., Paris, 1909.

5. *Zeits. f. analyt. Ch.* 1862, 1, p. 432.

6. Description et mode opératoire : FRESSENIUS. *Tr. anal. quant.*, 4, p. 468 Paris, 1909, Masson, édit.

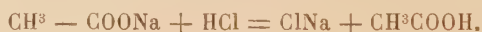
7. *Zeits. f. anal. Chem.*, 1862, I, p. 323.

titrant l'excès de chlorure de baryum par une liqueur de chromate de potassium, ne peut s'employer qu'en milieu neutre, et précipiterait également les phosphates et oxalates de l'urine. ROEMER¹ tourne la difficulté en opérant en milieu légèrement chlorhydrique avec une liqueur décimale de chlorure de baryum, puis égale quantité de liqueur décimale de bichromate de potassium, et enfin neutralisation par l'ammoniaque pour précipiter complètement le chromate de baryum.

Le chromate en excès est titré dans une partie aliquote du liquide filtré.

On pourrait aussi opérer en milieu acétique, les phosphate et oxalate de baryum étant assez solubles dans l'acide acétique.

Avec les solutions de bichromates, la précipitation n'est seulement complète par addition d'acétate alcalin, qui évite l'action dissolvante de l'acide chlorhydrique².



ANDREWS³ et HOLLIGER⁴ précipitent directement le sulfate par une solution chlorhydrique de chromate de baryum. Après neutralisation par le carbonate de chaux de l'ammoniaque, on amène à un volume connu, on filtre et l'on dose le chromate alcalin formé, correspondant au sulfate, soit :

1° Par le chlorure ferreux et le permanganate ;

2° Par l'acide arsénieux et l'iode (WINDISCH⁵) ;

3° Par l'iodure de potassium en liqueur chlorhydrique, dont l'acide chromique libère l'iode que l'on titre à l'hypo-sulfite (ANDREWS).

1. *Zeits. f. anal. Chem.*, 1910, 49, p. 409.

2. F.-P. TREADWELL. *Chim. anal.*, 1, p. 73-104, 1910, Dunod et Pinat, édit. Paris.

3. *Am. Chem.*, J., 1889, n° 11, p. 567.

4. *Zeits. f. analyt. Chem.*, 1910, n° 49, p. 84-93.

5. *Moniteur scientifique*, 1895, p. 201.

La première de ces techniques est la plus aléatoire, les solutions ferreuses étant d'une très mauvaise conservation. Nous avons essayé la troisième, en présence d'eau amidonnée : on verse l'hyposulfite titré, d'abord par quarts de centimètre cube, jusqu'à éclaircissement de la liqueur brunâtre, puis goutte à goutte jusqu'à décoloration presque totale (nuance verdâtre faible). Il faut opérer rapidement et charger la burette d'hyposulfite au début.

Dans la pratique, voici les chiffres que nous avons obtenus, en comparant la méthode de dosage par le chromate, selon ANDREWS, avec la méthode de dosage par pesée de sulfate de baryte :

MÉTHODE barytique.	MÉTHODE d'Andrews.	DIFFÉRENCE
1 ^{er} ,408	1 ^{er} ,440	2,3 p. 100
1 ^{er} ,263	1 ^{er} ,296	2,6 —
1 ^{er} ,291	1 ^{er} ,328	2,9 —
1 ^{er} ,337	1 ^{er} ,365	2,1 —

(Résultats exprimés en anhydride sulfurique, par litre).

Ayant obtenu chaque fois des différences comprises entre 2 et 3 p. 100, nous ne saurions conseiller ce procédé, qui semblerait se recommander par l'insolubilité complète du chromate de baryum dans l'eau pure ou alcaline, et l'emploi d'une seule liqueur titrée.

On peut doser directement l'acide sulfurique avec les sels de strontium. « Le sulfate de baryum est bien plus insoluble que celui de strontium, et le premier de ces sels ne se transforme pas complètement en carbonate par digestion avec le carbonate de soude, tandis que cela a lieu pour le sulfate de strontium, comme l'a démontré H. ROSE¹. »

Le sulfate de strontium pulvérisé se transforme, à l'ébullition, en présence de carbonate de soude en carbonate de

1. MOHR. *Anal. ch.*, p. 436, Savy, édit., Paris, 1888.

strontium. La réaction est plus complète avec le carbonate de potasse (FRESENIUS).

De plus le carbonate de strontium est, pour ainsi dire, complètement insoluble dans l'eau contenant de l'ammoniaque et du carbonate d'ammoniaque, tandis que la solubilité du carbonate de baryum est notablement augmentée par les sels ammoniacaux¹.

MOHR précipite donc l'acide sulfurique dans la liqueur très légèrement chlorhydrique avec du chlorure de strontium, ajoute un demi volume d'alcool et abandonne au repos, environ vingt-quatre heures. Le tout est ensuite filtré et lavé avec le moins possible d'eau chaude saturée de sulfate de strontium jusqu'à ce que le liquide qui passe ne soit plus troublé par le carbonate de soude². Le précipité est chassé dans un vase à fond plat et mis à digérer avec du carbonate de soude puis rejeté sur le même filtre et lavé avec de l'eau distillée chaude jusqu'à ce que le liquide qui passe ne réagisse plus sur le papier de tournesol violacé. Puis, le filtre et son précipité sont introduits dans le vase à fond plat où s'est faite la décomposition du sulfate de strontium, on ajoute du tournesol et un volume connu, en excès d'acide chlorhydrique normal. On laisse digérer, on chasse le gaz carbonique et l'on mesure l'excès d'acide avec la potasse normale².

On reconnaît la complète décomposition du sulfate de strontium à ce que le liquide doit devenir tout à fait limpide après l'action de l'acide chlorhydrique normal.

Comme on le voit, les causes d'erreur multiples, précipitation difficile, deux filtrations, manipulations diverses du précipité, et enfin la longueur des opérations, nuisent à la valeur pratique de cette méthode en chimie biologique.

Parmi les méthodes dans lesquelles intervient la précipi-

1. FRESENIUS. *Tr. an. ch. quant.*, 4, p. 248, 1909.

2. MOHR. *Anal. ch.*, p. 136, Savy, édit., Paris, 1888.

tation de l'excès de baryum ajouté, à l'état de carbonate, nous parlerons d'abord de celle imaginée par l'auteur précédent :

La précipitation des sulfates par le chlorure de baryum se fait dans le liquide rendu neutre. On laisse digérer longtemps à chaud. On précipite, sans filtration, l'excès de baryum, par un mélange (carbonate d'ammoniaque + ammoniaque). On recueille sur un filtre le précipité ($\text{SO}_4\text{Ba} + \text{CO}_3\text{Ba}$), on le lave jusqu'à cessation d'action des eaux de lavage sur le tournesol rougi bien sensible.

Puis on dose le carbonate de baryum à chaud, par une liqueur normale d'acide azotique. Le calcul se fait par différence. « Cette méthode, rapide à la condition d'opérer en liqueur neutre, ne peut être employée quand il y a des phosphates, oxalates, etc.¹ ».

Nous décrirons plus loin une modification apportée à cette méthode, permettant de l'adapter à l'urologie, ainsi que les suivantes.

AD. CLEMM² est l'auteur d'un dosage issu du même principe, et paraissant plus rapide. Selon lui, on opère dans un flacon jaugé. On met de la teinture de tournesol ou de l'orangé de méthyle, et l'on neutralise exactement avec de l'acide chlorhydrique ou de la soude. Puis on verse la liqueur de chlorure de baryum en petit excès, puis un égal volume de solution normale de carbonate de soude.

On amène au trait de jauge, et dans une partie aliquote du liquide filtré, on dose le carbonate de soude, qui correspond exactement à l'acide sulfurique cherché.

On ne peut non plus suivre cette technique en présence d'acides précipitant le baryum, ou en présence d'autres bases que les alcalis.

1. GAUVIN. *Bull. Sc. ph.*, juin 1914, p. 349.

2. *Zeitschr. f. analyt. Chem.*, 1870, n° 9, p. 122.

SIDERSKI¹ neutralise la solution de sulfates, et y verse un léger excès de solution décimale de chlorure de baryum, puis le même volume de solution décimale de carbonate de soude, puis quelques gouttes de solution alcoolique de phtaléine du phénol. Le mélange étant coloré en rose par suite de l'excès de carbonate alcalin, on précipite cet excès par la liqueur titrée de chlorure de baryum qui a pour effet, au moment de la précipitation complète du carbonate, de décolorer le mélange, revenu à la neutralité. Le volume de chlorure de baryum, ajouté en dernier lieu, correspond donc exactement aux sulfates alcalins.

Les acides précipitables par le chlorure de baryum faussent également la réaction. Ensuite, ayant essayé cette méthode, nous avons trouvé qu'une grosse incertitude planait sur l'appréciation exacte du terme de la réaction, incertitude accentuée encore par l'emploi de liqueurs décimales; nous ne nous y arrêterons donc pas.

VANSTEENBERGHE et BAUZIL² ont essayé d'adapter les méthodes de dosage par le carbonate à l'évaluation du soufre urinaire, en se basant sur les considérations suivantes, déduites de leurs expériences :

1° Élimination complète des bases alcalino-terreuses par le carbonate de soude, qui précipite en même temps une partie des phosphates, etc. ;

2° Dans un mélange de phosphates, oxalates métalliques, de carbonate de soude en excès et de chlorure de baryum, les phosphates et oxalates sont sans action sur ce dernier, seul le carbonate de soude entrant en combinaison avec le baryum.

Voici comment ils opèrent. L'urine, débarrassée d'albumine, est traitée par une solution de carbonate de soude à 150 p. 1 000, à la température de 60°-70°. On filtre.

1. *Moniteur scientifique*, 1888, p. 1132.

2. *Paris Médical*, 19 mai 1917. Dosage volumétrique des sulfates.

Une partie aliquote du filtrat, acidulé à l'acide chlorhydrique, est additionnée d'une solution de chlorure de baryum à 12^{gr},20 par litre, à la température de l'ébullition, pendant une minute, à peine (pour éviter l'hydrolyse des sulfoéthers). On filtre sur talc.

La liqueur filtrante, contenant le chlorure de baryum en excès, est alors traitée par un excès de carbonate de soude, et le précipité de carbonate de baryum ainsi formé est séparé par filtration et lavé sur un filtre sans plis. On l'entraîne ensuite, au moyen d'un jet de pissette, de façon à le mettre en suspension dans une petite quantité d'eau distillée (60 centimètres cubes). On titre alors l'excès de carbonate alcalin par une liqueur décimale d'acide chlorhydrique, en présence d'hélianthine. Le calcul se fait par différence.

Cette technique, en plus de la filtration préalable pour l'élimination des bases terreuses, exige deux filtrations pour les opérations du dosage proprement dit; on comprendra que, lorsque, pour l'examen d'un seul échantillon d'urine, on doit répéter le même dosage trois fois, la multiplication desdites filtrations devient fastidieuse, et, pour le moins, augmente d'autant les chances d'erreur.

De plus, s'il est exact que phosphates et oxalates restent en solution dans leur mélange avec le carbonate de soude en excès et le chlorure de baryum, il n'est pas absolument certain qu'une petite partie de phosphates et oxalates de baryum ne soit pas entraînée avec le précipité de carbonate de baryum. car nous avons pu déceler leur présence dans ce précipité, soigneusement lavé.

Quoique les résultats que nous avons trouvés dans la comparaison de cette méthode avec la méthode pondérale soient acceptables pour un dosage biologique, ils n'en sont pas moins constamment inférieurs d'environ 2 p. 100 à

ceux que l'on obtient en dosant les sulfates par pesée de sulfate de baryte. Les voici :

MÉTHODE		DIFFÉRENCE
barytique.	de Wansteenberghé Bauzil.	
1 ^{er} ,397	1 ^{er} ,368	2,1 p. 100
1 ^{er} ,348	1 ^{er} ,294	4,8 —
1 ^{er} ,276	1 ^{er} ,244	2,5 —
1 ^{er} ,359	1 ^{er} ,333	4,9 —

(Résultats exprimés en anhydride sulfurique, par litre.)

Les procédés dont nous venons de parler nous semblent donc imparfaits, pour les raisons que nous avons exposées. Le procédé VANSTEENBERGHE-BAUZIL est cependant le meilleur d'entre eux, pour le cas qui nous intéresse. Nous avons établi une technique analogue, avec des modifications ayant pour objet de le rendre plus simple, et aussi plus exact. Ainsi remanié, ce procédé peut rendre de réels services, si l'on ne peut employer la benzidine, dont nous parlerons plus loin, et avec laquelle a été imaginée une méthode de dosage volumétrique des sulfates que nous considérons comme la plus élégante et la plus rigoureuse à la fois de toutes les méthodes volumétriques indiquées jusqu'ici pour l'évaluation des sulfates dans l'urine.

1° Méthode de dosage au carbonate. (Méthode de Mohr modifiée.)

Elle est basée sur les considérations suivantes :

1° La totalité des phosphates et oxalates est précipitée par un petit excès d'acétate neutre de cuivre ;

2° Les bases terreuses, ainsi que l'excès de cuivre précédemment ajouté, sont éliminés par un excès de carbonate de soude ;

3° La liqueur primitive, ainsi traitée, est rendue neutre ou très légèrement acide, puis additionnée d'un excès de

chlorure de baryum, lequel excès est lui-même précipité, en milieu ammoniacal, par du carbonate d'ammoniaque, dans le liquide non filtré. Le carbonate de baryte est alors séparé en même temps que le sulfate de baryte, puis dosé par les procédés alcalimétriques ordinaires.

Ce mode opératoire supprime donc la première filtration du procédé Vansteenberghé et Bauzil.

On traitera donc l'urine de la façon suivante : 50 centimètres cubes d'urine sont additionnés de 2 centimètres cubes d'une solution d'acétate neutre de cuivre à 10 p. 100, et portés à 80°-90°.

Sans filtrer, on ajoute 10 centimètres cubes de solution de carbonate de soude à 25 p. 100, on chauffe de nouveau. On filtre sur papier. On laisse tomber dans le filtrat II gouttes de phénolphthaléine en solution à 2 p. 100 dans l'alcool à 90°.

On détruit alors l'excès de carbonate de soude en ajoutant peu à peu de l'acide chlorhydrique au dixième, et portant à 70° pour chasser le gaz carbonique ; on s'arrête à l'obtention d'une légère acidité. La liqueur est alors prête au dosage volumétrique suivant :

On étend avec 100 centimètres cubes d'eau distillée, puis on porte à l'ébullition, et l'on ajoute *immédiatement* et sans interrompre l'ébullition, 25 centimètres cubes de solution décinormale de chlorure de baryum, et on laisse bouillir une minute environ. Dans la liqueur chaude, et sans filtration préalable, on ajoute immédiatement : 4 centimètre cube d'ammoniaque pure + 5 centimètres cubes solution de carbonate d'ammoniaque à 10 p. 100.

Le précipité (sulfate de baryum + carbonate de baryum) est recueilli, à chaud, sur un entonnoir de Büchner de 5 centimètres de diamètre, muni d'un disque de toile surmonté d'une couche de pâte de papier, bien lavée puis essorée au préalable sur l'entonnoir, et saupoudrée de talc.

Le précipité est lavé sur le filtre jusqu'à cessation d'action des eaux de lavage sur le tournesol rougi bien sensible ; on le détache enfin de la toile avec la pâte de papier, et on l'introduit dans une fiole conique de 250 centimètres cubes ; le reste du précipité adhérent à l'entonnoir est entraîné au moyen d'un jet de pissette.

Le carbonate de baryum est alors redissous dans un excès de solution décimorale d'acide azotique, c'est-à-dire 25 centimètres cubes ; comme on avait mis, au début du dosage, 25 centimètres cubes de solution décimorale de chlorure de baryum, l'excès d'acide azotique correspond exactement aux sulfates.

C'est donc cet excès que l'on dose finalement par la soude décimorale.

Nous avons essayé de vérifier, par cette méthode, la teneur en acide sulfurique d'une solution approchée décimorale, ainsi que celle d'une solution de sulfate neutre de potassium, toutes deux évaluées exactement par un dosage pondéral.

Dosage d'un sulfate par la méthode de Mohr. — Sur une prise d'essai de 20 centimètres cubes d'une solution de sulfate neutre de potasse, étendue d'eau distillée pour faire 150 centimètres cubes, nous avons ajouté, à l'ébullition, un excès, c'est-à-dire 25 centimètres cubes de solution décimorale de chlorure de baryum, puis maintenu une minute à l'ébullition.

Puis nous avons continué la même série d'opérations que ci-dessus.

Dosage d'un acide sulfurique en présence de phosphates, oxalates, bases terreuses, par la méthode de Mohr modifiée. — A 20 centimètres cubes d'une solution d'acide sulfurique décimorale approchée, mesurée d'après un dosage pondéral, additionnée de V gouttes de solution d'oxalate d'ammoniaque à 4 p. 100 + X gouttes de solution de phosphate

d'ammoniaque à 10 p. 100 + 1 centimètre cube de solution de chlorure de calcium à 20 p. 100, nous avons ajouté de l'acétate de cuivre, puis du carbonate de soude comme précédemment indiqué; nous avons filtré, étendu le filtrat à 150 centimètres cubes environ avec de l'eau distillée, puis traité par le chlorure de baryum à l'ébullition, etc...

Voici les résultats que nous avons obtenus, après plusieurs expériences :

	DOSAGE		DIFFÉRENCE
	pondéral.	au carbonate.	
(SO ⁴ K ²)	0 ^{gr} ,169	I. 0 ^{gr} ,171	1,1 p. 100
		II. 0 ^{gr} ,170	0,5 —
(SO ⁴ H ²) (Phosphates, oxalates, bases terreuses.)	0 ^{gr} ,153	I. 0 ^{gr} ,155	1,3 —
		II. 0 ^{gr} ,154	0,5 —
		III. 0 ^{gr} ,154	0,5 —

(Résultats pour 20 centimètres cubes de liqueur d'essai, calculés en anhydride sulfurique.)

Nous avons ensuite continué nos essais sur l'urine elle-même; nous en détachons les chiffres caractéristiques suivants ¹ :

PRISE D'ESSAI 50 centimètres cubes d'urine.	DOSAGE		DIFFÉRENCE
	pondéral.	au carbonate.	
1 ^{er} échantillon.	1 ^{gr} ,286	1 ^{gr} ,302	1,2 p. 100
2 ^e —	1 ^{gr} ,338	1 ^{gr} ,350	0,8 —
3 ^e —	1 ^{gr} ,002	1 ^{gr} ,021	1,8 —
4 ^e —	1 ^{gr} ,246	1 ^{gr} ,271	2,0 —
5 ^e —	1 ^{gr} ,323	1 ^{gr} ,344	1,5 —
6 ^e —	1 ^{gr} ,411	1 ^{gr} ,428	1,2 —
7 ^e —	1 ^{gr} ,258	1 ^{gr} ,270	0,9 —
8 ^e —	1 ^{gr} ,306	1 ^{gr} ,322	1,2 —
9 ^e —	1 ^{gr} ,453	1 ^{gr} ,475	1,5 —
10 ^e —	1 ^{gr} ,132	1 ^{gr} ,149	1,4 —
11 ^e —	1 ^{gr} ,237	1 ^{gr} ,249	0,9 —

(Résultats exprimés en SO³, par litre.)

¹ Les urines contenant des quantités non négligeables d'albumine doivent en être débarrassées par la chaleur.

Ils sont donc largement acceptables pour un dosage biologique. Les causes d'erreur résultent, comme nous l'avons déjà fait remarquer, de la solubilité relative du carbonate de baryum dans l'eau chargée de sels ammoniacaux, mais en évitant un gros excès de ceux-ci et opérant à chaud, de façon à agglomérer le précipité, on obtient une réaction à peu près quantitative.

Pour les analyses rigoureuses, il est préférable de doser, ainsi que nous l'avons fait, le carbonate de baryum, non pas directement, mais par l'intermédiaire d'un excès de la liqueur acide que l'on ajoute pour le dissoudre ; le dosage alcalimétrique de cet excès se fera ensuite rapidement et sera d'une certitude plus absolue quant au terme de la réaction.

Ces avantages — joints à ceux précédemment énoncés, à savoir : précipitation complète des éléments étrangers de l'urine susceptibles d'entrer en réaction ; emploi d'une seule filtration pour le dosage proprement dit ; utilisation, à cette fin, de l'entonnoir de Büchner, accélérant encore la vitesse des opérations, et permettant de ne perdre aucune parcelle du précipité si l'on prend soin de bien essorer, après filtration, de façon à recueillir une couche compacte de matière — nous paraissent donner à ce procédé, en même temps qu'un usage commode, une rigueur suffisante dans les résultats, et pour ces raisons, nous le croyons propre à entrer dans la pratique des analyses biologiques.

2^e Méthode de dosage à la benzidine.

Cette méthode, déduite par RASCHIG¹ de celle de WOLF-MULLER, a été adaptée au dosage du soufre urinaire par GAUVIN et SKARZINSKY².

1. *Zeitschr. f. angew. Ch.*, 1903, p. 617-618.

2. *Note à la Soc. de Chimie*, décembre 1903. *Médecin pratic.*, 1913, p. 153.

La benzidine, découverte en 1845 par ZININ est le dipara-diaminodiphényle : $\text{AzH}_4^2 - \text{C}^6\text{H}_4 - \text{C}^6\text{H}_4 - \text{AzH}_4^2$. On l'obtient en traitant, à l'ébullition, l'hydrazobenzol industriel purifié : $\text{C}^6\text{H}_5 - \text{AzH} - \text{AzH} - \text{C}^6\text{H}_5$, par l'acide chlorhydrique et l'eau. Le chlorhydrate de benzidine cristallise ; on le dissout dans l'eau et l'on précipite la base par la soude.

La benzidine cristallise en grandes lamelles brillantes, incolores. Elle fond à 122° . Elle se dissout dans 2 447 parties d'eau froide, dans 106 parties d'eau bouillante.

Sous l'influence des oxydants, elle fournit des colorations intenses. Oxydée par le bioxyde de manganèse et l'acide sulfurique, elle fournit beaucoup de quinone. Si, à sa dissolution dans le sulfure de carbone, on ajoute peu à peu de l'eau bromée très diluée, la liqueur aqueuse se colore en bleu intense, puis passe au vert foncé, et enfin se décolore ; le sulfure de carbone prend une coloration rouge foncé.

La benzidine est une base diacide. Le chlorhydrate neutre de benzidine est constitué par de minces tables rhomboïdales, très solubles dans l'eau et l'alcool. Le *sulfate neutre de benzidine* : $\text{C}^{12}\text{H}_8(\text{AzH}^2)^2\text{SO}^2\text{H}^2$, cristallisant en petites aiguilles soyeuses, est presque insoluble dans l'eau bouillante ou dans l'alcool ; la benzidine permet, en effet, de décélérer, sous cette forme 4 milligrammes d'acide sulfurique dans 200 centimètres cubes de solution¹.

La benzidine fournit enfin des matières colorantes qui teignent les fibres végétales sans mordantage préalable, et formant une gamme complète, du rouge au violet, en passant par le jaune et le bleu. Les dérivés tétrazoïques de la benzidine donnent naissance à des matières colorantes telles que le rouge Congo, la chrysamine G ou flavophénine, et le jaune Congo².

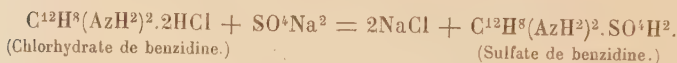
1. A. CHASTON-CHAPMAN. *Soc. chim.*, Londres, 15 mars 1917.

2. Voir BERTHELOT et JUNG-FLEISCH, *Tr. de Ch. org.*, t. II, p. 650-652, Dunod, édit., Paris, 1904.

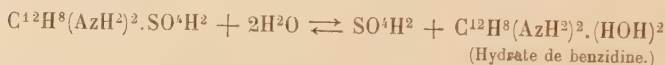
Pour le dosage des sulfates, on emploie la benzidine en solution à l'état de chlorhydrate :

Le sulfate insoluble formé est facilement hydrolysé à chaud, et l'acide sulfurique libéré, qui n'est autre que celui du sulfate à doser, est titrable directement par un alcali. Les réactions sont les suivantes :

1° *Précipitation* :



2° *Hydrolyse* :



L'hydrate de benzidine, instable, se décomposerait presque immédiatement en eau et benzidine, finalement régénérée.

Nous avons dosé, par cette méthode, des solutions de sulfate neutre de potassium, additionnées de phosphates et oxalates dans des proportions voisines de celles de l'urine normale, les proportions de sulfates étant déjà connues par la méthode pondérale. Nous avons donc opéré selon la technique de GAUVIN, qui est la suivante.

20 centimètres cubes de solution de sulfate neutre de potassium, additionnées de V gouttes de solution d'oxalate d'ammoniaque à 4 p. 100 + X gouttes de solution de phosphate d'ammoniaque à 10 p. 100, ont été introduits dans un verre à expérience de 500 centimètres cubes de capacité, acidulés avec 2 centimètres cubes d'acide chlorhydrique au 1/10° (pour empêcher la précipitation des phosphates, oxalates) et additionnés de 350 centimètres cubes, c'est-à-dire un excès de benzidine très diluée, selon la formule suivante :

Solution mère de benzidine . . .	50 centimètres cubes.
Eau distillée . . . Q. S. p.	1 000

Solution mère de benzidine : *

Benzidine pure	40 grammes.
Broyer au mortier avec HCl. concentré et pur	50 centimètres cubes.
Eau distillée. . . . Q. S. p.	1 000 —

Nous avons alors amorcé la réaction par agitation avec une baguette de verre, puis laissé au repos vingt minutes : il s'est formé un précipité de sulfate neutre de benzidine, insoluble dans un excès de solution benzidinique.

Nous avons employé pour la filtration un entonnoir de Büchner de 5 centimètres de diamètre, muni d'un disque de toile et d'une couche de pâte de papier soigneusement lavée et essorée au préalable.

Le liquide surnageant, le précipité a d'abord été décanté, puis nous avons fait passer le précipité avec une petite quantité de liquide, et finalement nous avons rincé le verre avec 20 centimètres cubes environ de solution benzidinique ; le précipité a été lavé sur le filtre avec 5 centimètres cubes environ d'eau distillée et essoré à la trompe.

Le précipité a été détaché de la toile avec la couche de pâte de papier, et introduit dans une fiole conique de 250 centimètres cubes, l'entonnoir et le morceau de toile ont été soigneusement débarrassés du reste de précipité adhérent, à l'aide d'un jet de pissette ; nous avons enfin ajouté III gouttes de solution alcoolique de phtaleine du phénol à 2 p. 100, puis porté à l'ébullition.

L'hydrolyse effectuée, nous avons titré SO^{H}_2 libéré par une liqueur de soude décijnormale.

Ce dosage a porté sur deux solutions différentes de sulfate de potasse dosées exactement par pesée.

Nous avons, en outre, procédé à la vérification automatique d'une liqueur normale d'acide sulfurique, et ceci avec une solution de benzidine vieille de deux mois. En voici le détail :

5 centimètres cubes de solution d'acide sulfurique normal

ont été neutralisés par : $N_1 = 5$ centimètres cubes de solution de soude normale.

Le sulfate ainsi formé a été additionné de V gouttes de solution d'oxalate d'ammoniaque à 4 p. 100 + X gouttes de solution de phosphate d'ammoniaque à 10 p. 100, puis traité par la benzidine et dosé par le procédé GAUVIN, indiqué plus haut. Il a été versé, à cet effet, N_2 centimètres cubes de soude normale.

Nous avons trouvé : $N_1 = N_2 = 5$ centimètres cubes. Ce qui vérifie l'exactitude des résultats obtenus. Voici, d'ailleurs, les chiffres fournis par nos expériences (en anhydride sulfurique pour 20 centimètres cubes de solution).

	DOSAGE		DIFFÉRENCE
	pondéral.	benzidinique.	
<i>Solution de sulfate de potassium.</i>	0 ^{gr} ,169	I. 0 ^{gr} ,169	0,0 p. 100
		II. 0 ^{gr} ,169	0,0 —
	0 ^{gr} ,157	0 ^{gr} ,159	0,6 —
	DOSAGE alcalimétrique.		
<i>Solution d'acide sulfurique.</i>	0 ^{gr} ,156	0 ^{gr} ,156	0,0 —

Opérant enfin sur l'urine, nous avons relevé les résultats suivants :

PRISE D'ESSAI 20 centimètres cubes d'urine.	DOSAGE		DIFFÉRENCE
	pondéral.	benzidinique.	
1 ^o . échantillon	1 ^{gr} ,338	1 ^{gr} ,356	1,3 p. 100
2 ^o —	1 ^{gr} ,302	1 ^{gr} ,312	0,8 —
3 ^o —	1 ^{gr} ,243	1 ^{gr} ,254	0,8 —
4 ^o —	1 ^{gr} ,341	1 ^{gr} ,362	1,6 —
5 ^o —	1 ^{gr} ,290	1 ^{gr} ,306	1,2 —
6 ^o —	1 ^{gr} ,396	1 ^{gr} ,409	0,9 —
7 ^o —	1 ^{gr} ,294	1 ^{gr} ,313	1,5 —
8 ^o —	1 ^{gr} ,249	1 ^{gr} ,258	1,5 —
9 ^o —	1 ^{gr} ,350	1 ^{gr} ,365	1,4 —
10 ^o —	1 ^{gr} ,476	1 ^{gr} ,489	0,8 —
11 ^o —	1 ^{gr} ,387	1 ^{gr} ,402	1,4 —
12 ^o —	1 ^{gr} ,078	1 ^{gr} ,093	1,4 —

(Résultats exprimés en SO^3 , par litre.)

Nous trouvons donc là une méthode de choix, et comme rapidité, et comme précision. L'identité des résultats obtenus après deux dosages successifs sur le même liquide nous permet de la considérer comme d'une certitude absolue, et elle a, sur la méthode précédente, au carbonate, l'avantage d'être d'une réalisation plus aisée, à cause de l'insolubilité plus parfaite du sulfate de benzidine.

D'autres sels seraient susceptibles de précipiter l'excès de baryum, mais on ne peut les utiliser pour diverses raisons : L'hyposulfite de baryum n'est insoluble qu'en liqueur très concentrée. Le sulfite de baryum est beaucoup plus insoluble que le précédent, mais dans ses solutions, le sulfite neutre de sodium se transforme peu à peu en sulfate. Enfin, le séléniate de baryum aurait pu suggérer une méthode, car ce corps, insoluble dans l'eau et les acides étendus se dissout dans l'acide chlorhydrique concentré, à chaud, en se réduisant à l'état de sélénite de baryum et dégageant du chlore, qui aurait pu être mesuré par déplacement d'iode et titrage à l'hyposulfite ; mais on ne peut songer à utiliser un produit aussi rare et coûteux pour des analyses courantes.

DE L'HYDROLYSE DES SULFO-ÉTHERS

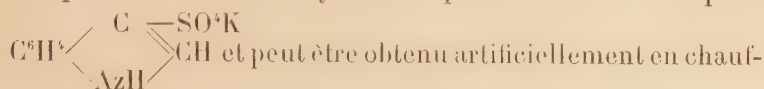
Le type des éthers sulfuriques des phénols que l'on rencontre dans l'urine est le phénylsulfate de potassium ou de sodium, à côté duquel on trouve les paracrésylsulfate et indoxylsulfate de potassium ou de sodium.

Le phénylsulfate de potassium est le sel de l'éther sulfurique acide du phénol, de formule : $\text{C}^6\text{H}_5 - \text{SO}^3\text{K}$; obtenu indirectement en faisant agir, au sein de l'eau, à $60^\circ\text{--}70^\circ$ pendant sept à huit heures, un phénate alcalin sur le pyrosulfate de potassium (BAUMANN). L'acide phénylsulfurique est isomère des acides phénolsulfoniques : $\text{OH} - \text{C}^6\text{H}_4 - \text{SO}^3\text{H}$, dont on distingue deux variétés, ortho et para (suivant que le radical $-\text{SO}^3\text{H}$ est placé en position 2 ou 4 par rapport à l'oxydrile $-\text{OH}$), qui prennent naissance à des températures différentes. Les deux variétés s'obtiennent en mélangeant du phénol cristallisé avec de l'acide sulfurique chimiquement pur, à poids égaux; à 150° , on obtient le dérivé para à peu près seul (KÉKULÉ).

L'acide phénylsulfurique (de LAURENT, BERTHELOT, KÉKULÉ) a été nommé par certains auteurs acide sulfophénique (BARDY et DUSART) ou acide oxyphénylsulfureux (SOLOMMA-NOFF)¹. Au contact de l'acide chlorhydrique, il fixe de l'eau en donnant du phénol et du sulfate acide de potassium.

1. O. GONDARD, *Etude sur les acides oxyphénylsulfureux et les oxyphénylsulfes*, p. 9, Paris, 1874, Pichon, édit.

L'indoxylsulfate de potassium est le sel de l'éther sulfurique acide de l'indoxyle. Il a pour formule chimique :



Le paracrésylsulfate de potassium : $\text{CH}_3^3 - \text{C}^6\text{H}^4 - \text{SO}^+\text{K}$, dérive du paracrésylol $\text{CH}_3^3 - \text{C}^6\text{H}^4 - \text{OH}$. L'acide chlorhydrique le dédouble également, et régénère du sulfate acide de potassium.

Dans la pratique, on dose l'acide sulfurique que ces sulfo-éthers libèrent par hydrolyse, sous l'action de l'acide chlorhydrique, pendant un quart d'heure, à l'ébullition.

BAUMANN est l'auteur d'une méthode de dosage des sulfates et des sulfo-conjugués, qui consiste à doser l'acide sulfurique des sulfates en précipitant ces derniers par le chlorure de baryum, sur l'urine, en milieu acétique à la température du bain-marie.

Dans le filtrat, soumis à l'ébullition en présence d'acide chlorhydrique pur, on dose l'acide sulfurique des phénylsulfates par précipitation barytique.

DESMOULIÈRE fait remarquer¹ que, non seulement les phénylsulfates sont partiellement décomposés dans la 1^{re} phase de l'opération (action prolongée de l'eau à la température d'ébullition, indépendamment de l'action propre de l'acide acétique), mais que, d'autre part, avec certaines urines, il peut y avoir précipitation d'urate de baryte qui, à la calcination, viendra se surajouter au résidu. De plus, cet auteur a remarqué qu'à la température du bain-marie, en milieu acétique, il se forme du phosphate de baryte insoluble.

DESMOULIÈRE fait remarquer¹ que, non seulement les phénylsulfates sont partiellement décomposés dans la 1^{re} phase de l'opération (action prolongée de l'eau à la température d'ébullition, indépendamment de l'action propre de l'acide acétique), mais que, d'autre part, avec certaines urines, il peut y avoir précipitation d'urate de baryte qui, à la calcination, viendra se surajouter au résidu. De plus, cet auteur a remarqué qu'à la température du bain-marie, en milieu acétique, il se forme du phosphate de baryte insoluble.

1. *Répert. de Pharm.*, 1906, p. 496. D'après *Journ. de Ph. et de Ch.*, 1^{er} octobre 1906.

décelable, dans le produit de la calcination, par le molybdate d'ammoniaque. Il a ainsi obtenu, pour les sulfates métalliques, un chiffre pouvant être supérieur à celui du soufre total. Même « les lavages du précipité à l'eau bouillante additionnée d'acide acétique jusqu'à absence de réaction des eaux de lavage au molybdate d'ammoniaque n'arrivent pas à priver ce précipité d'acide phosphorique ».

La méthode de SALKOWSKI¹ permet de doser séparément sulfates métalliques et sulfo-éthers, en opérant de la façon suivante :

1° *Dosage des sulfates métalliques.* — On ajoute à l'urine une solution d'hydrate de baryum et de chlorure de baryum; on précipite ainsi les sulfates, phosphates, carbonates, urates, à l'état de sels de baryte; un lavage à l'eau contenant de l'acide azotique dissout tous ces sels à l'exception du sulfate de baryte qu'on isole ainsi et que l'on pèse.

2° *Dosage des sulfo-conjugués.* — Le filtrat renferme les sulfo-conjugués à l'état de sels barytiques solubles; on les décompose par ébullition en présence d'acide chlorhydrique, et l'on dose l'acide sulfurique correspondant par pesée de sulfate de baryte.

Le précipité global obtenu avec la solution alcaline barytique étant long et difficile à laver, rend délicate l'exécution de ce procédé. Aussi DESMOULIÈRE a cherché à le modifier ainsi :

1° *Dosage du soufre acide.* — 100 centimètres cubes d'urine sont additionnés de 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur; on fait bouillir pendant un quart d'heure et l'on ajoute un excès de chlorure de baryum. On dose le sulfate par pesée du sulfate de baryte.

2° *Dosage des sulfo-conjugués.* — 125 centimètres cubes

1. *Virchow's Arch.*, 79, p. 552.

d'urine sont additionnés, dans un vase à précipitations, d'un égal volume du mélange :

Solution saturée à froid de Ba(OH)^2 . . 600 centimètres cubes .

— — — — BaCl^2 . . 300 — —

(Agiter vivement et filtrer.)

A 200 centimètres cubes du filtrat (correspond à 100 centimètres cubes d'urine), on ajoute 20 centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur, et l'on porte à une ébullition modérée pendant quinze minutes. Les sulfo-conjugués sont ainsi hydrolysés. On dose l'acide sulfurique libéré par pesée de sulfate de baryte.

La différence entre les deux résultats donne le chiffre des sulfates métalliques.

Or, d'après GAUVIN¹, une partie des sulfo-éthers reste dans le précipité barytique ; le chiffre obtenu sera donc trop faible. Pour parer à cet inconvénient, il dose globalement (sulfates + sulfo-éthers) ; les sulfates étant dosés préalablement sur l'urine non modifiée, les sulfo-conjugués seront donnés par différence.

Dans ce but, il procède à l'hydrolyse en présence d'HCl, employé à la dose de $1/5^{\circ}$ du volume de l'urine, pendant quinze minutes à l'ébullition, sur une prise d'essai de 20 centimètres cubes d'urine.

Il est parfaitement exact, en effet, d'après les expériences que nous avons faites sur une solution connue de phényl-sulfate de potassium, puis sur plusieurs échantillons d'urines, qu'il y a entraînement non négligeable d'une portion des sulfo-éthers, entraînement qui peut atteindre près de 10 p. 100 du poids de ces sulfo-éthers, par la solution alcaline de chlorure de baryum du procédé SALKOWSKI. On peut en juger par le tableau suivant :

¹ Bull. Soc. pharm., juin 1914, p. 344.

		PROCÉDÉ		DIFFÉRENCE
		Gauvin.	Salkowski.	
Solution type de phénylsulfate de potassium.	1 ^{re} expérience.	0 ^{gr} ,288	0 ^{gr} ,271	5,9 p. 100.
	2 ^e —	0 ^{gr} ,291	0 ^{gr} ,272	6,3 —
<i>Urines.</i>				
1 ^{er} échantillon		0 ^{gr} ,157	0 ^{gr} ,144	8,6 —
2 ^o —		0 ^{gr} ,191	0 ^{gr} ,175	8,5 —
3 ^o —		0 ^{gr} ,132	0 ^{gr} ,124	6,5 —
4 ^e —		0 ^{gr} ,147	0 ^{gr} ,135	8,0 —
5 ^e —		0 ^{gr} ,183	0 ^{gr} ,171	6,4 —
6 ^e —		0 ^{gr} ,150	0 ^{gr} ,138	8,2 —

Nous sommes donc d'avis d'écarter ce procédé.

D'autre part, dans une série d'essais comparatifs sur du phénylsulfate alcalin, puis sur l'urine, nous avons pu remarquer que la durée de chauffe de quinze minutes, en présence de 1/5^e d'acide chlorhydrique, étant suffisante pour l'hydrolyse totale, l'ébullition maintenue sur des échantillons identiques pendant une demi-heure, puis une heure et demie ne nous ayant pas fourni de chiffres sensiblement supérieurs, ainsi que l'on peut s'en rendre compte par le tableau suivant :

		DURÉE DE CHAUFFE A L'ÉBULLITION		
		1/4 d'heure.	1/2 heure.	1 h. 1/2.
Solution type de phényl- sulfate de potassium .		0 ^{gr} ,2895	0 ^{gr} ,289	0 ^{gr} ,290
	(moyenne de 2 dosages)			
<i>Urines.</i>				
1 ^{er} échantillon		0 ^{gr} ,184	0 ^{gr} ,185	0 ^{gr} ,185
2 ^o —		0 ^{gr} ,168	0 ^{gr} ,169	0 ^{gr} ,172
3 ^o —		0 ^{gr} ,179	0 ^{gr} ,179	0 ^{gr} ,180
4 ^e —		0 ^{gr} ,231	0 ^{gr} ,233	0 ^{gr} ,231
5 ^e —		0 ^{gr} ,127	0 ^{gr} ,127	0 ^{gr} ,127
6 ^e —		0 ^{gr} ,175	0 ^{gr} ,176	0 ^{gr} ,176
7 ^e —		0 ^{gr} ,209	0 ^{gr} ,209	0 ^{gr} ,212
8 ^e —		0 ^{gr} ,194	0 ^{gr} ,196	0 ^{gr} ,195
9 ^e —		0 ^{gr} ,116	0 ^{gr} ,118	0 ^{gr} ,119
10 ^e —		0 ^{gr} ,217	0 ^{gr} ,218	0 ^{gr} ,218
11 ^e —		0 ^{gr} ,138	0 ^{gr} ,140	0 ^{gr} ,140
12 ^e —		0 ^{gr} ,121	0 ^{gr} ,121	0 ^{gr} ,121

Ce sont là des résultats bien approchants, et, sauf pour le

deuxième échantillon des urines examinées (une heure et demie de chauffe), où l'erreur relative vis-à-vis du résultat obtenu en ne chauffant qu'un quart d'heure, atteint exceptionnellement 2,3 p. 100, on peut dire que les erreurs sont négligeables. Il importe donc peu, dans ces conditions, de prolonger la durée de l'ébullition : ce serait pure perte de temps et de combustible.

Enfin, dans une étude faite sous l'inspiration du D^r MATHIEU, M. MEILLÈRE, contrôlant les méthodes de BAUMANN et de SALKOWSKI, dont nous avons parlé, a trouvé qu'elles étaient en défaut. Il proposa donc, pour le dosage des sulfo-éthers dans l'urine, de faire l'hydrolyse de ces composés en tube scellé, à 120°, cette opération lui ayant donné des chiffres plus forts. Or, nous avons vu que, les méthodes de BAUMANN et de SALKOWSKI, introduisant de grosses erreurs par défaut, il est logique d'admettre que l'hydrolyse directe, opérée sur l'urine non modifiée, c'est-à-dire non privée de ses sulfates métalliques, doit donner des résultats plus complets. Nous avons vérifié par nous-même les chiffres obtenus à la seule température de l'ébullition et ceux obtenus à 120°, en tube scellé ; l'opération ayant été maintenue une heure et demie dans l'un comme dans l'autre cas. Cette vérification a été effectuée d'abord sur du phénylsulfate de potassium¹, puis sur plusieurs échantillons d'urines. Voici les résultats qu'elle nous a donnés :

	CHAUFFÉ	
	Tube scellé, 120°.	Ebullition, 1/2 heure.
Solution de phénylsulfate de potassium.	0 ^{gr} ,294	0 ^{gr} ,289
Urines.		
1 ^{er} échantillon.	0 ^{gr} ,124	0 ^{gr} ,123
2 ^e —	0 ^{gr} ,153	0 ^{gr} ,153
3 ^e —	0 ^{gr} ,137	0 ^{gr} ,137
4 ^e —	0 ^{gr} ,166	0 ^{gr} ,165

(Résultats exprimés en anhydride sulfurique, par litre. Dosage benzinique.)

1. L'échantillon de phénylsulfate de potassium dont nous parlons nous a été

Les chiffres obtenus dans l'ensemble de ces expériences nous permettent donc de conclure que : *la température d'ébullition, maintenue un quart d'heure, est largement suffisante pour l'hydrolyse complète des sulfo-conjugués urinaires.*

obligeamment prêté par M. MEILLÈRE. Nous avons employé ce sulfo-conjugué en solution aqueuse.

DE LA DESTRUCTION DES MATIERES ORGANIQUES

Après avoir dosé les sulfates minéraux et les sulfo-conjugués dont l'ensemble constitue le soufre acide, par les procédés que nous venons d'indiquer, l'on procédera à la destruction des matières organiques de l'urine, dans le but de transformer, par oxydation, tout le soufre organique en sulfates. On effectuera alors le dosage du soufre total sur l'urine ainsi modifiée, en appliquant les méthodes relatives aux sulfates.

La différence entre le chiffre du soufre total, ainsi déterminé, et celui du soufre acide, donnera la proportion de soufre neutre que contient l'urine.

Un grand nombre de procédés ont été indiqués pour la destruction des matières organiques.

On peut classer en trois catégories l'ensemble des méthodes indiquées par les divers auteurs qui se sont occupés de cette question. Ce sont :

1° Destruction des matières organiques en présence d'un corps agissant comme catalyseur ;

2° Destruction des matières organiques par un oxydant unique ;

3° Destruction des matières organiques par plusieurs oxydants.

1° Destruction des matières organiques en présence d'un corps agissant comme catalyseur.

FROIDEVEAUX¹, dans la recherche des fluorures alcalins dans les viandes et produits de charcuterie, incinère au rouge sombre, dans une capsule de platine, 30 grammes de matière organique, en présence de 1 ou 2 centimètres cubes d'une solution de carbonate de soude à 50 p. 100.

Comme substance catalytique, on a songé à employer de la pierre ponce pulvérisée, ou même simplement des débris pulvérulents de capsules de porcelaine.

GENECIL² emploie la magnésie calcinée légère, dont il fait un mélange intime avec la matière à traiter, puis il dessèche le tout dans une capsule de platine à fond plat, au bain-marie bouillant d'abord, puis à l'étuve à 120°, puis à la flamme du bec Bunsen, en veilleuse, en inclinant le creuset de 3/4 sur un triangle en terre de pipe, de façon à empêcher les gaz de la flamme d'intercepter l'arrivée de l'air à l'intérieur du creuset.

BOURCET³, pour la recherche de traces d'iode, dessèche la matière organique en présence d'une solution diluée de potasse, puis fond ensuite la masse avec de la potasse pure.

2° Destruction des matières organiques par un oxydant unique.

DOUMER et LIMOZIN⁴ ont pensé pouvoir utiliser les propriétés oxydantes énergiques du pôle positif dans l'électrolyse, à la transformation en sulfates du soufre neutre de l'urine.

1. VILLIERS, COLLIN, FAYOLLE. *Altér. subst. alim.* — Féculents, etc..., p. 304, Doin, édit., Paris, 1909.

2. G. DENIGÈS. *Tr. Ch. anal.*, Maloine, 1907, p. 283.

3. G. DENIGÈS. *Tr. Ch. anal.*, Maloine, 1907, p. 285.

4. *Comptes rendus Soc. Biol.*, 1914, n° 16, p. 799.

Voici comment ils opèrent : 50 centimètres cubes d'urine sont placés dans un vase en verre de Bohême, de contenance double (à cause de l'augmentation de volume provoquée par la mousse abondante de l'urine au moment du passage du courant). On plonge dans le liquide deux lames de platine, isolées l'une de l'autre, et reliées chacune à l'une des bornes de la source du courant. On fait passer ce dernier de façon à débiter 0 ampère, 200 pendant trois heures, ce qui correspond au voltage de 10.000 coulomb, nécessaire pour opérer une bonne oxydation sur les 50 centimètres cubes d'urine prélevés. Ce voltage peut, d'ailleurs, être réduit, en augmentant la conductibilité du liquide par deux moyens susceptibles d'être mis à profit simultanément : 1° la chaleur ; 2° l'addition à l'urine de quelques gouttes d'acide azotique, dont la présence, au dire des auteurs, n'altère en rien les résultats du dosage.

On peut ensuite traiter la liqueur, à chaud, par une dissolution de chlorure de baryum, suivant la technique connue. La différence observée entre la méthode chimique et la méthode électrique décrite, sur trois échantillons différents d'urines, n'auraient pas dépassé 1 p. 100 du poids total du sulfate de baryte.

JAQUELAIN et DEVERGIE, puis WOEHLER¹ ont employé le chlore gazeux en toxicologie. Nous parlerons plus loin d'essais faits par nous avec une méthode au chlore.

LEO HESS s'est inspiré de ce principe pour doser le soufre neutre dans l'urine². Selon cet auteur, pour précipiter préalablement tout l'acide sulfurique, on acidifie une assez grande quantité d'urine (au moins 500 centimètres cubes) avec 1/10^e, en volume, d'HCl pur. On additionne ensuite le mélange d'un faible excès de chlorure de baryum ; on fait bouillir un instant et on laisse, pendant six heures au moins,

1. OGIER. *Tr. Chim. toxicol.*, O. Doin, édit., Paris, 1899, p. 230.

2. *Berl. Klin. Wochenschr.*, 1908, p. 1452.

au bain-marie bouillant. On filtre à froid, au bout de vingt-quatre heures de repos, à la température ordinaire. Dans des essais préliminaires, LEO HESS avait établi que le soufre neutre s'oxyde facilement au contact de l'air. On évite cette oxydation en plaçant l'urine, pendant les opérations précédentes, dans un ballon contenant une sphère chargée d'acide pyrogallique et de lessive alcaline, assez semblable à l'appareil de Péligot. Le produit filtré, limpide comme de l'eau, qui ne contient plus que le soufre neutre, est rendu fortement alcalin avec de la lessive de soude pure, conformément à une méthode indiquée par Bunsen, et on fait passer un courant de gaz chlore dans la solution, jusqu'à saturation. La liqueur prend peu à peu la couleur de l'eau de chlore, et le précipité floconneux produit par l'addition de lessive de soude se redissout en général complètement. Pendant le traitement de la liqueur par le courant de chlore, le vase où l'on opère doit être recouvert d'un verre de montre. Quelques heures plus tard, on acidifie avec de l'acide chlorhydrique pur, on chasse le chlore par la chaleur, et on recueille sur un filtre le précipité très fin qui se sépare. On pèse ce précipité, qui contient le soufre neutre, à l'état de sulfate de baryte.

BEUDANT, DAGUIN et RIVOT¹ ont suivi le même procédé pour un grand nombre de matières organiques.

MODRAKOWSKI², opérant sur 50 centimètres cubes d'urine, l'évapore à consistance sirupeuse dans une capsule de nickel, en présence de 1 à 2 grammes de peroxyde de sodium, puis il ajoute encore, par petites portions, 2 à 3 grammes de ce peroxyde, et chauffe à fusion, à l'aide d'une lampe à alcool (le gaz d'éclairage introduirait du soufre); il reprend enfin par l'eau, filtre pour séparer l'oxyde de nickel provenant de la capsule, acidule à l'acide

1. D'après FRESENIUS. *Tr. anal. ch. quant.*, 1, p. 908, Masson, édit., Paris, 1909.

2. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1903, 38, p. 562.

chlorhydrique, et dose l'acide sulfurique à l'état de sulfate de baryte. Certains bioxydes commerciaux contenant des sulfates, on doit vérifier la pureté du peroxyde de sodium employé (DESMOULIÈRE).

L'inconvénient de cette méthode est que le peroxyde de sodium est peu aisé à manier en présence d'une matière organique. Pour parer à ce danger, des modifications ont été introduites. Nous citerons les suivantes.

ABDERHALDEN et FUNCK évaporent à siccité 10 centimètres cubes d'urine, additionnée d'un peu de soude et de 0^{sr},4 de sucre de lait pur, dans un creuset de nickel. Le résidu est mélangé avec 6^{sr},4 de peroxyde de sodium, au moyen d'une spatule de platine; le creuset est plongé jusqu'aux trois quarts de sa hauteur dans une capsule de porcelaine contenant de l'eau froide. Son contenu est enflammé au moyen d'une pointe de fer chauffée au rouge et introduite par un trou percé dans le couvercle du creuset¹.

EDINGER² se sert d'une solution étendue, puis concentrée, de peroxyde de sodium.

ASBOTH³ évapore un liquide organique jusqu'à consistance sirupeuse avec 5 grammes de carbonate de soude dans un creuset de nickel, puis ajoute 5 grammes de carbonate de soude et 5 grammes de peroxyde de sodium et brasse la masse avec un fil de platine : il se produit une réaction énergique. On chauffe alors avec une petite flamme ne touchant pas le creuset. Lorsqu'il y a un commencement de fusion, on chauffe plus fortement, jusqu'à fluidité de la masse. La solution aqueuse filtrée est enfin acidulée avec de l'acide chlorhydrique contenant du brome; on porte à l'ébullition, pour chasser tout le brome, et la liqueur est prête pour le dosage de l'acide sulfurique.

1. *Zeits. f. analyt. Chem.*, 1909, p. 724.

2. *Ber. Tr. deutsch. Chem. Ges.*, 1895, 28, p. 427.

3. *Chem. Zeitung*, 1895, 49, p. 2040.

La proportion de 1 partie de peroxyde de sodium pour 2 parties de carbonate est importante, afin d'éviter une détonation et la perte qui s'ensuivrait¹.

KOLBE² emploie comme oxydant le chlorate de potasse, qu'il mélange avec 8 parties de carbonate de sodium pur et anhydre, et le tout est mêlé intimement avec la matière organique dans un tube à combustion de 40 à 45 centimètres, fermé à un bout; on ménage un canal d'air le long du tube et l'on chauffe suivant une technique indiquée.

FRESENIUS et BABO³ font agir le chlorate de potasse avec de l'acide chlorhydrique; il y a un dégagement de chlore qui oxyde la masse.

OGIER⁴ fait dégager le chlore au sein même du liquide où le chlorate est dissous en y faisant barboter un courant de gaz chlorhydrique produit en chauffant légèrement un ballon contenant de l'acide chlorhydrique, liquide pur dans lequel s'écoule, par une ampoule à robinet, munie d'un tube à effilure recourbée, de l'acide sulfurique pur.

FOLIN oxyde 50 centimètres cubes d'urine avec 0^{gr},20 de chlorate de potasse + 4 centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur, pendant vingt minutes à l'ébullition. Si le liquide n'est pas décoloré, on ajoute encore un peu de chlorate de potasse.

GAUVIN⁵ a modifié ce dernier procédé en opérant sur 20 centimètres cubes d'urine, avec 0^{gr},20 de chlorate de potasse et 20 centimètres cubes d'HCl au 1/10^e, à l'ébullition, pendant vingt minutes. L'excès de chlorate devant être éliminé; à cause de son action oxydante, nuisible au procédé de dosage des sulfates par la benzidine qu'emploie cet

1. FRESENIUS. *Anal. Ch. quant.*, I, p. 907, Masson, édit., Paris, 1909.

2. *Dictionn. de Chimie*. Supplément, p. 205.

3. OGIER. *Tr. Chimie toxicol.*, O. Doin, édit., Paris, 1899, p. 258.

4. OGIER, *Tr. Chimie toxicol.*, Doin, édit., Paris, 1899, p. 260.

5. *Bull. Soc. Ph.*, 21, p. 354 (1914).

auteur, il le fait en ajoutant, toujours à l'ébullition, 1 centimètre cube de solution de sucre à 10 p. 100¹.

Avec CARIUS, nous passons aux procédés employant comme oxydant l'acide azotique. Il se servait d'abord d'acide azotique de 25 à 60 p. 100 de concentration. Or, de cette façon, les phénylsulfates (?) en particulier ne sont que très peu oxydés. Il reconnut ensuite que l'acide azotique de densité 1,5 oxyde complètement tous les corps entre 200° et 320°. Il faut 1,5 à 2 fois la quantité d'acide hydraté théoriquement nécessaire, mais pas plus, pour favoriser la réaction. La chauffe doit se faire dans un tube scellé, à parois épaisses, renfermé lui-même dans un autre tube en fer, non hermétiquement fermé.

Le tout est introduit et chauffé dans une étuve à air en tôle. La durée de chauffe ne doit généralement pas dépasser une heure et demie, sans compter la première demi-heure nécessaire pour atteindre la température².

MOHR³, opérant sur l'urine, en évapore 100 centimètres cubes dans une capsule de porcelaine, puis ajoute 10 à 15 centimètres cubes d'acide azotique fumant, et abandonne une heure ou deux à froid. L'acide azotique est ensuite chassé au bain-marie, et le résidu est repris par l'acide chlorhydrique pour enlever la silice que renferme l'urine. La liqueur filtrée est recueillie, ainsi que les eaux de lavage.

FILHOL⁴ a donné une technique basée sur le même principe.

KULZ⁵, dosant le soufre dans la bile, évapore à plusieurs reprises le contenu du tube de *Carius* avec de l'acide

1. VOIRIN fait observer que l'action de l'eau bromée ou de HCl en présence ClO³K transforme facilement les cyanures et la cystine en sulfates et carbonates, tandis qu'il laisse intacte la taurine. (Thèse, Nancy, 1894.)

2. *Ann. de Chem. u. Pharm.*, 1860, 116, p. 11 ; 1865, 136, p. 120. *Zeits. f. analyt. Chem.*, 1835, 4, p. 451 ; 1871, 10, p. 103.

3. *Zeits. f. physiol. Chem.*, 1895, 20, p. 556.

4. OGIER. *Tr. Chim. toxicol.*, Doin, édit., Paris, 1899, p. 252.

5. *Zeits. f. analyt. Chem.*, 1872, 11, p. 353.

chlorhydrique concentré. L'acide azotique est ainsi décomposé.

M. MEILLÈRE a démontré que l'acide azotique fumant renferme presque toujours des traces d'acide sulfurique que l'on ne peut déceler, et qui faussent les résultats. D'où l'inconvénient d'employer les méthodes ci-dessus.

La méthode de LIEBIG, pour la destruction des substances protéiques, appliquée également par OREILA, puis WOEHLER, SIEBOLD¹, en toxicologie, emploie l'oxydation par la potasse pure additionnée de 1/8^e de salpêtre pur (exempt de sulfates). Il faut opérer dans une grande capsule en argent où l'on chauffe ces deux produits additionnés de quelques gouttes d'eau. Après fusion, on ajoute la substance organique, en poudre fine, et l'on continue à chauffer sur la lampe en remuant avec une spatule d'argent, jusqu'à blanchiment complet de la masse, dont le charbon a peu à peu disparu. Au besoin, on ajouterait à nouveau un peu de salpêtre, par petites portions.

MOREIGNE est l'auteur d'une méthode reproduite dans la plupart des manuels d'analyses. Il prend 5 grammes du mélange :

Azotate de sodium pulvérisé	20 grammes.
Carbonate de sodium.	4 —

qu'il ajoute à 50 centimètres cubes d'urine, dans un creuset en porcelaine, et évapore à siccité au bain-marie. Puis, ajoutant de nouveau 10 grammes du même mélange, il calcine la masse avec précaution, en ayant soin de chauffer surtout les parties latérales et supérieures du creuset, afin d'éviter un trop grand boursoufflement, qui occasionnerait des pertes de matière. Il redissout enfin la masse dans l'eau chlorhydrique bouillante pour le dosage des sulfates².

1. OGIER. *Tr. Chimie toxicol.*, O. Doin, édit., Paris, 1899, p. 251.

2. Dr H. MOREIGNE. *Méth. de dosage des élém. imp. de l'urine*, p. 167, Steinheil, édit., Paris, 1895.

MOREIGNE déconseille l'emploi du creuset d'argent, indiqué par beaucoup d'urologistes. Outre son prix d'achat, fort cher, ce creuset métallique est doué d'une conductibilité telle que la chaleur s'uniformise rapidement dans toute la masse, et l'oxydation tend à se produire partout en même temps; d'où danger de boursoufflement excessif et de perte de matière.

D'autre part, MOREIGNE a constaté l'attaque du creuset d'argent, décelable par l'aspect grisâtre de la matière en fusion, aspect dû à la présence d'argent réduit que l'on retrouve à l'état pulvérulent après traitement du culot par l'eau chlorhydrique. Dans certains cas, il se forme en même temps du chlorure d'argent.

Il est donc préférable de faire usage d'un creuset de porcelaine. Mais, dans ces conditions, MOREIGNE a observé que l'emploi de nitrate de potasse provoque le bris du creuset pendant le refroidissement (ce phénomène serait dû à l'attaque chimique de la couverte par le mélange oxydant), en particulier pour les creusets de Saxe et de Berlin, dont s'était servi cet auteur, tandis que les creusets de porcelaine de Bayeux résistaient, en général, parfaitement. Le nitrate de soude, substitué au nitrate de potasse, dit-il, supprime cet inconvénient.

De plus, on diminue les chances d'accident en opérant la destruction des matières organiques sur une masse moins considérable de produit, et aussi en employant des capsules de porcelaine au lieu de creusets¹.

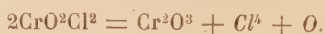
3° Destruction des matières organiques par plusieurs oxydants.

SCHLAGDENHAUFEN et PAGEL² ont employé la destruction par le chlorure de chromyle, que l'on prépare en mélangeant du

1. MOREIGNE. *Dos. élém. imp. de l'urine*, Steinheil, édit., 1895.

2. OGIER. *Tr. Chim. toxicol.*, Doin, édit., Paris, 1899, p. 264.

sel marin avec du bichromate de sodium et de l'acide sulfurique ; la réaction est la suivante :



Ce corps agit donc à la fois par son chlore et par son oxygène.

DEBUS¹ emploie pour l'oxydation un mélange de bichromate de potassium et de carbonate de sodium. L'opération s'effectuant dans un tube à combustion fermé à une extrémité, nous citons simplement ce procédé qui ne trouve d'application que lorsqu'on s'adresse à des substances solides.

ESCHKA² préconise le mélange de :

Magnésie calcinée	1 gramme.
Carbonate de sodium anhydre.	0 ^{gr} ,50
Carbonate de potassium	0 ^{gr} ,50

employé pour un gramme de substance sèche (en l'espèce, pour un gramme d'extrait sec de l'urine), et le tout étant chauffé en creuset ouvert et incliné sur la lampe à alcool. Pour rendre la combustion complète, on agite la masse avec un fil de platine. De plus, afin de changer en sulfates les sulfures ayant pu se former au début, on mêle intimement au contenu du creuset 0^{gr},50 à 1 gramme de nitrate d'ammonium déshydraté, en poudre fine.

Il est bien entendu, d'ailleurs, que, dans ces divers procédés, chacun des éléments des mélanges employés doit être rigoureusement exempt de sulfates, ou sinon il faudrait, dans un dosage supplémentaire, en déterminer la proportion, et retrancher l'acide sulfurique correspondant au chiffre final.

L'oxydation par l'acide azotique fumant et le brome serait intéressante, mais incommode à cause de la manipulation du brome.

1. *Ann. der Chem. und Pharm.*, 1850. 76, p. 90.

2. *Zeits. für analyt. Chem.*, 1874. 13, p. 344.

PEARSON¹ ajoute à de l'acide azotique à 39° Baumé un deuxième oxydant qui est le chlorate de potassium. La destruction se fait à une douce chaleur, dans une capsule de porcelaine recouverte d'un entonnoir à tube recourbé à angle droit. Le chlorate est ajouté par petites portions, et l'on chauffe jusqu'à complète oxydation.

Citons aussi le procédé de KONSCHEGG², avec l'acide azotique fumant et l'azotate de potasse.

Puis celui de WOLF-OESTERBERG³ reprenant le résidu sec de l'urine (sur 100 centimètres cubes) par 20 centimètres cubes d' AzO^3H fumant jusqu'à cessation de vapeurs nitreuses, et achevant l'oxydation au moyen de 20 centimètres cubes de la solution suivante :

Azotate de potassium	50 grammes.
Azotate de cuivre	200 —
Eau distillée	Q. S. p. 1 000 centimètres cubes.

par évaporation, puis chauffage au rouge sombre. On dissout les cendres dans l'acide chlorhydrique.

Enfin, la méthode VILLIERS-DENIGÈS⁴, usitée dans les recherches toxicologiques, et que GAUVIN⁵ a appliquée avec succès à l'urologie. En voici la technique :

« Dans une fiole conique de 125 centimètres cubes, mettre 20 centimètres cubes d'urine, 10 centimètres cubes d'acide azotique fumant, porter à l'ébullition et ajouter, goutte à goutte, une solution de permanganate de potasse à 2 p. 100 jusqu'à ce que le bioxyde de manganèse formé ne se dissolve plus que difficilement. Laisser refroidir. Le liquide est incolore, et servira tel quel au dosage des sulfates si l'on n'emploie pas le dosage par la baryte, sinon il faudrait éli-

1. *Zeits. f. analyt. Chem.*, 1870, 9, p. 261.

2. *Plüger's Arch.*, 123, p. 274.

3. *Bioch. Zeits.*, 1908, 9, p. 307.

4. Voir Méth. DENIGÈS. DENIGÈS. *Tr. Ch. anal.*, p. 272, Maloine, 1907.

5. *Bull. Sc. Ph.*, juin, 1914, p. 343.

miner l'acide azotique et reprendre par l'acide chlorhydrique. »

Ainsi « la matière organique est détruite en moins de quinze minutes, à la condition d'employer une forte dose d'acide azotique fumant, et beaucoup de permanganate de potasse ».

Telles sont les principales méthodes proposées jusqu'à ce jour pour la destruction des matières organiques, et en particulier dans l'urine. Nous les apprécierons dans la suite de ce travail.

Nous donnerons, au préalable, un compte rendu de recherches nouvelles effectuées par nous, ayant pour objet de modifier certaines techniques, dont le principe était déjà connu, et qui, tout en étant considérées parfois comme d'excellentes méthodes de destruction, n'en présentent pas moins de notables imperfections, quant à précision qu'on est en droit d'attendre d'elles.

Nouveaux essais de destruction des matières organiques.

Nous exposerons donc des méthodes d'oxydation des matières organiques, basées sur les principes suivants :

1° Oxydation par le *chlore gazeux*;

2° Oxydation par un mélange : acide azotique + acide chlorhydrique, avec une trace de permanganate de potasse; nous la désignerons sous le nom de procédé à l'*eau régale*;

3° Oxydation par un mélange : azotate de potassium + carbonate de potassium + carbonate de sodium, à parties égales; nous lui donnerons le nom de procédé au *mélange fusant*;

4° Oxydation par le *nitrate de magnésie*.

1° *Procédé au chlore gazeux*. — Nous avons dit précédemment que JAQUELAIN et DEVERGIE, puis WÖHLER, en toxico-

logie, et enfin LEO HESS, en urologie, avaient déjà employé le chlore gazeux pour oxyder les matières organiques.

Les opérations fastidieuses, extrêmement longues, indiquées par ce dernier auteur, ne sont guère pratiques pour un laboratoire d'analyses médicales.

Avec M. MEILLÈRE, nous avons pensé pouvoir modifier cette technique de destruction de la façon suivante :

L'oxydation des matières organiques est obtenue par un courant lent de chlore gazeux. La production du gaz halogéné pourra être obtenue, dans les laboratoires, de la façon que nous allons indiquer.

On confectionne des agglomérés en forme de boulettes du poids de 5 à 6 grammes environ (grosueur un peu supérieure à celle d'une noix de galle) de chlorure de chaux pulvérulent et de plâtre. On prendra les proportions suivantes :

Chlorure de chaux pulvérisé	240 grammes.
Plâtre	80 —

On gâchera ce mélange, par petites portions, au moyen d'une spatule en os, sur un marbre ou sur une plaque de verre, avec une très petite quantité d'eau : quelques gouttes suffiront, ou même, peut-être, la simple humidité du chlorure de chaux. La masse liante ainsi obtenue sera étalée en couche de 1 centimètre d'épaisseur, puis divisée sur la plaque, au moyen de la spatule, en carrés de 1 centimètre de côté, et l'on roulera en boules chacun des cubes ainsi formés.

On fera alors sécher dans un courant d'air, ou à une très douce chaleur ces agglomérés; on n'a pas intérêt à les faire sécher trop rapidement, car ils se fendillent et se cassent. Avec cette quantité, on pourra opérer environ deux ou trois destructions.

On se servira d'acide chlorhydrique au demi pour obtenir le dégagement de chlore, et l'on pourra construire aisément

un appareil à production continue, sur le modèle de celui de Deville, en employant des récipients que l'on trouve généralement dans les laboratoires.

On prendra un flacon à décantation, à tubulure inférieure, de la contenance de un litre, auquel on adaptera un bouchon de caoutchouc laissant passer un tube de verre de 5 centi-

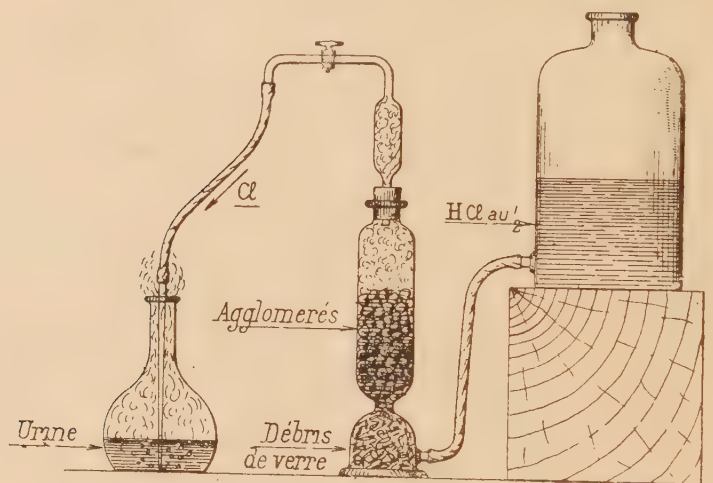


Fig. 1. — Dispositif pour production de chlore gazeux.

mètres de longueur environ, qui permette de joindre ce premier vase à un second, au moyen d'un tube de caoutchouc à parois épaisses; le deuxième récipient est constitué par une colonne à dessécher les gaz, dont la partie inférieure à l'étranglement est remplie de débris de verre, et la partie supérieure, remplie aux trois quarts d'agglomérés (plâtre + hypochlorite). Cette colonne est surmontée d'un tube renflé, qui sert d'appareil de sûreté, pour éviter l'entraînement possible du liquide acide, au cas d'un dégagement tumultueux; enfin, ce tube est muni d'un robinet permettant l'attaque par l'acide et la production du courant gazeux, ou le reflux du liquide dans le premier vase, provoquant la

cessation de l'attaque. Pour avoir une pression suffisante, on doit évidemment placer le flacon à liquide chlorhydrique à un niveau convenable. Pour fonctionner, l'appareil doit donc être disposé comme l'indique la figure 1.

Ceci fait, on prélèvera 20 centimètres cubes de l'échantillon d'urine à analyser, préalablement neutralisée et étendue de 20 centimètres cubes d'eau distillée, on y ajoutera un cristal de permanganate de potasse et l'on fera passer un courant de chlore réglé pour un dégagement lent et continu. On laissera l'oxydation s'effectuer ainsi sous une hotte vitrée, afin de ne pas être incommodé par les vapeurs de chlore, et cela pendant au moins une demi-heure.

Au bout de ce temps, on arrêtera le dégagement gazeux, on chassera le chlore à l'ébullition, on laissera refroidir, on neutralisera, on ajoutera 1 centimètre cube d'HCl au 1/10^e, et le liquide sera prêt pour le dosage de l'acide sulfurique correspondant au soufre total par la benzidine. En faisant usage d'un robinet à trois voies, on pourra faire deux destructions simultanées.

Nous verrons cependant que ce procédé donne des résultats un peu faibles; même en faisant barboter le gaz pendant une heure, nous n'avons pas constaté de chiffre supérieur.

2° *Procédé à l'eau régale.* — Nous avons ensuite essayé une méthode dont le principe avait déjà été mis à profit par Gaultier de Claubry en toxicologie, et qui nous a également donné d'excellents résultats.

Elle est basée sur l'emploi du mélange : acide azotique + acide chlorhydrique, en présence d'une trace de permanganate de potasse, selon le principe énoncé par M. le professeur VILLIERS : « Lorsqu'un corps oxydable se trouve dans des conditions telles que l'oxydation ne commence pas encore, ou ne se produise que très lentement, l'addition d'une trace d'un sel de manganèse, dans un grand nombre de cas, détermine ou accélère très notablement la réaction ».

Voici le détail des opérations :

Dans un matras d'essayeur, on introduit 20 centimètres cubes d'urine, puis un cristal de permanganate de potasse ; on ajoute ensuite 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur et l'on porte à l'ébullition sous une hotte. A ce moment,

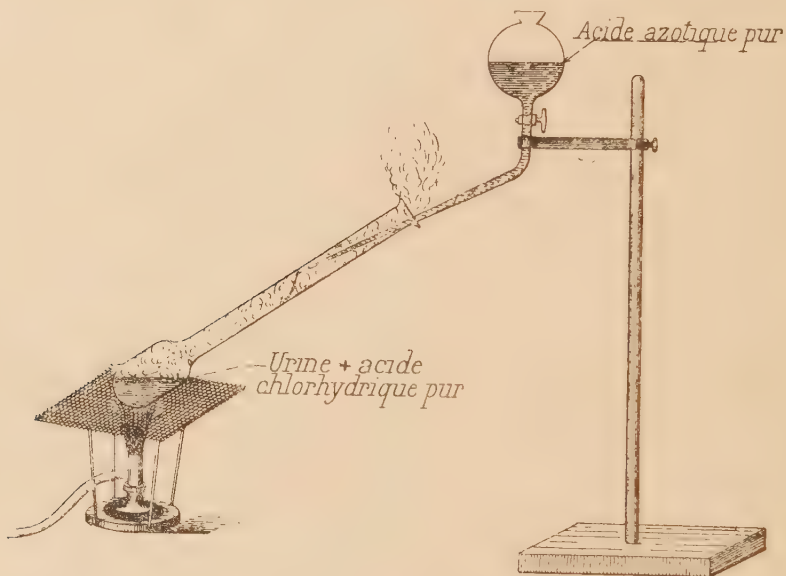


Fig. 2. — Destruction des matières organiques par le procédé à l'eau régale.

on laisse écouler, goutte à goutte, au moyen d'une ampoule à robinet, munie d'un tube coudé et effilé, environ 5 centimètres cubes d'acide nitrique pur. On maintient à une douce ébullition, pendant un quart d'heure, puis on laisse refroidir. (Fig. 2).

On verse alors le contenu du matras d'essayeur dans une capsule en porcelaine de 125 centimètres cubes, on rince le matras avec quelques centimètres cubes d'eau distillée que l'on ajoute au premier liquide, on évapore au bain-marie, puis on reprend par l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique,

et l'on opère le dosage de l'acide sulfurique correspondant au soufre total par la méthode benzidinique.

Comme nous le verrons par la suite, ce procédé donne une destruction complète et rapide. Ici, la dose d'acide nitrique employée est relativement faible.

3° *Procédé au mélange fusant.* — Ce procédé est analogue à celui de MOREIGNE, déjà vu. Il est préférable, ici, d'opérer dans un petit moufle, car on peut alors aisément surveiller la chauffe, qui se poursuit régulièrement, et uniformément dans toute la masse du produit à traiter, et cela permet de ne pas dépasser le début de la fusion, point auquel il est convenable de s'arrêter, l'oxydation étant, à ce moment, complète; si l'on ne dispose pas d'un moufle, on pourra cependant se contenter de la flamme du bec Bunsen maintenue basse, surtout au début de la calcination.

On se servira d'un mélange dont le point de fusion, relativement bas, permet, sans employer une chauffe considérable, de détruire complètement la molécule organique. C'est le fusant, dont la composition est la suivante :

Azotate de potassium pur ¹	} 44 parties égales.
Carbonate de potassium, anhydre pur . . .	
Carbonate de sodium, anhydre pur . . .	

Les carbonates de potassium et de sodium seront obtenus à l'état anhydre et pur en partant respectivement des bicarbonates de potassium et de sodium pulvérisés, que l'on chauffera, dans un creuset de porcelaine, à *une flamme très légère*, en agitant continuellement avec un ringard de nickel; l'opération sera terminée lorsque la masse ne sera plus boursouflée par les dégagements de vapeur d'eau et de gaz carbonique.

20 centimètres cubes d'urine sont donc additionnés de

1. On pourrait employer l'azotate de sodium, pour éviter le danger de bris des récipients en porcelaine. Nous préférons cependant l'azotate de potassium, que l'on peut avoir très pur.

4 grammes du mélange fusant, et le tout est évaporé à siccité, au bain-marie, dans une capsule en porcelaine de 125 centimètres cubes. On ajoute de nouveau 8 grammes du mélange fusant, que l'on triture soigneusement avec le résidu de la capsule. On chauffe alors jusqu'à fusion de la masse qui, après formation d'un charbon, blanchit complètement. L'opération est alors terminée ; on redissout la masse dans l'eau bouillante chlorhydrique, jusqu'à plus de dégagement de gaz carbonique. Le liquide, refroidi, est alors additionné de soude étendue, jusqu'à neutralité, puis on ajoute 1 centimètre cube d'acide chlorhydrique au 1/10^e, et l'on procède au dosage benzidinique du soufre total.

Nous donnerons plus loin, dans une étude comparative, les résultats obtenus par ce procédé.

Il faut remarquer, cependant, qu'aucun de ces procédés n'est exempt d'inconvénients ; dans le procédé au fusant, en effet, l'usage de nitrate de potasse peut déterminer, lors du refroidissement, des craquements dans le creuset ou la capsule employés ; d'autre part, le mélange ayant subi un commencement de fusion, forme, au fond de la capsule, un culot que la liqueur acide met un certain temps à redissoudre ; de plus, on introduit, quoique dans des proportions moindres que pour la méthode de Moreigne, une quantité de sels alcalins qui, peut-être, n'est pas sans influence sur la benzidine. Nous avons donc cherché à employer un nitrate qui ne présente pas ces inconvénients.

4^o *Procédé au nitrate de magnésie.* — MONTHULÉ¹ avait déjà employé la magnésie, sous forme de nitrate, pour la destruction des matières organiques.

Récemment, ARMAND GAUTIER et CLAUSMANN², dans une

1. D'après G. DENIGÈS. *Tr. Ch. analyt.*, p. 284, Maloine, édit., Paris, 1907.

2. A. GAUTIER et P. CLAUSMANN. Sur une méthode nouvelle de destruction des tissus pour la recherche de l'arsenic et l'examen de leurs cendres. *Comptes rendus Acad. Sciences*, 2 juillet 1917, p. 41-43.

note à l'Académie des sciences, ont présenté une méthode de destruction des matières organiques animales et végétales, basée sur l'emploi de la chaux pure du marbre, ou mieux de son nitrate.

« La substance animale ou végétale est portée à l'étuve et chauffée vers 300° jusqu'à ce qu'après boursoufflement et foisonnement, elle soit devenue broyable au mortier de porcelaine. On la mélange alors au pilon avec 2 ou 3 p. 100 de son poids de chaux vive qu'on éteint avec un peu d'eau. Après broyage, on place le mélange pulvérulent dans une capsule de porcelaine à fond plat et à bords surbaissés qu'on introduit dans un petit four à moufle, chauffé à une température modérée, telle que le fond du four atteigne à peine le rouge naissant. La matière, qui boursoufle un peu au début, se brûle ensuite lentement, et très aisément dans ces conditions, comme le ferait une plaque d'amadou ; l'opération n'exige aucune surveillance. Si l'on est parti de 100 grammes de matière primitive, par exemple, on obtient, en ayant soin de ne pas remuer, des cendres poreuses blanches, ou blanc-grisâtre. Après refroidissement, on les pulvérise, on les reprend par l'eau, etc... »

Armand Gautier et Clausmann, opérant selon cette technique sur de la chair musculaire de veau, de la chair de bœuf, de l'estomac de porc, de la cervelle de mouton, etc..., et y introduisant des quantités connues d'arsenic, ont trouvé que, lorsqu'il s'agit de millièmes de milligramme d'arsenic introduits, la perte (apparente) *ne dépasse pas 0 milligramme*, 001.

De notre côté, nous avons pu appliquer avec succès cette méthode à la destruction des matières organiques de l'urine. La magnésie étant plus catalytique que la chaux, nous lui avons donné la préférence.

20 centimètres cubes d'urine sont donc versés dans une capsule de porcelaine de 125 centimètres cubes, et l'on y fait dis-

soudre 2 grammes de nitrate de magnésium. On chauffe, au bec Bunsen, avec une douce flamme ne touchant pas le fond de la capsule (si l'on ne possède pas de petit four à moufle) et on laisse l'opération s'effectuer d'elle-même. Le liquide s'évapore lentement, pour laisser place à un résidu brun-jaunâtre, qui se boursoufle en champignon feuilleté. On chauffe alors plus fortement ; il se forme un charbon, puis la masse devient progressivement blanche, de place en place, en brûlant « comme le ferait une plaque d'amadou », suivant l'expression d'ARMAND GAUTIER.

Après calcination complète, on laisse refroidir, on traite par l'acide chlorhydrique à l'ébullition, on étend de quelques centimètres cubes d'eau distillée, et la liqueur, ensuite neutralisée, est prête pour le dosage benzidinique du soufre total.

Le boursoufflement de la magnésie en masse feuilletée donne une matière fragile, capable de s'éparpiller par une légère secousse, ou par un courant d'air ; aussi l'on fera bien, pendant le refroidissement, de recouvrir la capsule d'une soucoupe ou d'un grand verre de montre, par exemple.

Etude expérimentale comparative des méthodes de destruction des matières organiques.

Etant donné le grand nombre de méthodes proposées pour la destruction des matières organiques, il en est peu qui se recommandent à la fois par la précision des résultats et la simplicité des manipulations.

Nous avons essayé celles qui nous ont paru, sous ce rapport, les plus pratiques, en opérant sur des poids exactement connus de corps à molécule soufrée tels que la saccharine, puis sur l'urine elle-même.

La saccharine, de formule chimique : $C^6H^4 \begin{matrix} \swarrow CO^{(1)} \\ \searrow SO_2^{(2)} \end{matrix} AzH$, est

l'imide orthosulfobenzoïque, préparé dans l'industrie en partant du toluène. Elle se présente en petits cristaux incolores, donnant, à chaud, une légère odeur d'amandes amères. On sait qu'elle possède une saveur sucrée cinq cents fois plus intense, à poids égal, que celle du sucre. Elle est assez peu soluble dans l'eau froide (400 parties), beaucoup plus dans l'eau bouillante (30 parties), soluble dans 30 parties d'alcool froid, et 100 parties d'éther. Le soufre de ce dérivé de la série aromatique se laisse peu aisément attaquer par les oxydants, et l'on n'arrive pas toujours, ainsi que nous allons le constater, à l'amener intégralement à l'état d'acide sulfurique. C'est pour cette raison que l'on peut admettre que les méthodes de destruction s'appliquant aux matières organiques soufrées pourront être comparées d'après leur puissance d'oxydation vis-à-vis de l'imide orthosulfobenzoïque.

Nous avons donc pesé très exactement des quantités uniformes de saccharine, purifiée par cristallisation dans l'eau, puis desséchée à l'étuve à 100°. Nous en avons prélevé *vingt-cinq centigrammes* pour chaque expérience, que nous avons fait dissoudre, à chaud, dans 50 centimètres cubes d'eau distillée ; après quoi, nous avons procédé aux essais de destruction des matières organiques selon les techniques suivantes, décrites au cours de ce travail :

1° *Méthode de Moreigne* : Evaporation et fusion en présence du mélange d'azotate de sodium et carbonate de sodium ;

2° *Méthode au fusant* : Ici, le mélange précédent est remplacé par : azotate de potassium + carbonate de potassium + carbonate de sodium, à parties égales ;

3° *Méthode au nitrate de magnésie* : évaporation et calcination en présence d'une petite quantité de nitrate de magnésie pur.

4° *Méthode de Mohr* : contact, à froid, avec l'acide azotique fumant ;

5° *Méthode de Folin* : ébullition en présence de chlorate de potasse et d'acide chlorhydrique ;

6° *Méthode au chlore gazeux*, ce dernier se dégageant lentement au sein du liquide.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

*Chiffre théorique, en SO^3 , correspondant
à 0^r,25 de saccharine : 0^{gr},409*

MÉTHODES de destruction des matières organiques.	I		II	
	Résultats.	Différence.	Résultats.	Différence.
	gr.	p. 100	gr.	p. 100
Moreigne	0,406	2,7	0,406	2,7
Fusant	0,407	4,8	0,406	2,7
Nitrate de Mg	0,404	4,5	0,405	3,6
Mohr	0,095	12,8	0,098	10,0
Folin	0,044	59,6	0,038	65,4
Chlore gazeux	Pas d'oxydation.	»	Pas d'oxydation.	»

Il va sans dire que les conclusions expérimentales fournies par nos essais sur la saccharine ne peuvent entraîner l'élimination des méthodes de MOHR, de FOLIN, et celle au chlore gazeux, pour l'oxydation des matières organiques de l'urine, celle-ci ne contenant pas, en effet, de composés soufrés comparables à la saccharine, au point de vue de la résistance à l'oxydation.

Les expériences que nous avons faites à ce propos ont uniquement pour but de déterminer celle de ces méthodes qu'il conviendra de choisir comme base au cours de notre étude comparative sur l'urine.

Les méthodes-types seraient donc les deux premières du tableau précédent. Nous verrons plus loin qu'il y a lieu de préférer la méthode au mélange fusant, cette dernière nous ayant donné, avec les dosages barytique et benzidinique, des

chiffres plus rapprochés que la méthode de MOREIGNE, dans les expériences de GAUVIN¹.

Nous examinerons maintenant, en tenant compte de ces premiers résultats, la valeur de chacun des principaux procédés que nous avons exposés dans ce qui précède.

Nous ne conseillerons pas l'oxydation par le bioxyde de sodium, qui donne lieu facilement à des pertes par projection (il est important de manipuler le bioxyde, non sur le papier, mais sur une main de cuivre), non plus que l'oxydation par l'acide azotique et le chlorate de potassium, qui n'est pas toujours sans danger.

DESMOULIÈRE², opérant sur deux urines de malades atteints de cystinurie, en comparaison avec une urine normale, a obtenu des résultats bien différents par les quatre procédés de MOREIGNE (azotate de sodium + carbonate de sodium), MODRAKOWSKY (bioxyde de sodium), MOHR (acide azotique fumant, à froid) et FOLIN (acide chlorhydrique + chlorate de potasse) : alors que la destruction du soufre neutre était intégrale par les deux premiers, il constata une sensible erreur par défaut en faisant usage de ceux de MOHR et FOLIN.

Cependant GILL et GRINDLEY³, reprenant l'analyse critique du procédé MODRAKOWSKY, modifié par FOLIN⁴, lui reprochèrent une erreur due à la formation d'hydrogène sulfuré, sous l'influence de l'acide chlorhydrique, aux dépens de la masse fondue, observation corroborée ensuite par GAUVIN, qui constata une odeur nette d'acide sulfhydrique en reprenant par l'acide chlorhydrique.

Quant aux trois autres méthodes de destruction, selon MOREIGNE, MOHR et FOLIN, nous les avons comparées sur plusieurs échantillons d'urines, et, quoiqu'elles ne nous aient

1. *Bull. des Sc. pharm.*, juin 1914, p. 354.

2. *Répert. de Pharm.*, 1906, p. 496.

3. *Bull. Soc. Chim.*, 1910, p. 57.

4. *Journ. of Biol. Chem.*, 1906, t. I, p. 131.

pas donné de différences très sensibles, nous avons toujours eu des chiffres supérieurs par la destruction selon MOREIGNE, ainsi que l'on peut en juger par les résultats suivants :

	MÉTHODE		DIFFÉRENCE	MÉTHODE	
	de Moreigne.	de Mohr.		de Folin.	DIFFÉRENCE
1 ^{er} échantillon.	1 ^{er} ,460	1 ^{er} ,445	1,0 p. 100	1 ^{er} ,449	0,7 p. 100
2 ^o —	1 ^{er} ,872	1 ^{er} ,855	0,9 —	1 ^{er} ,843	1,5 —
3 ^o —	1 ^{er} ,721	1 ^{er} ,699	1,2 —	1 ^{er} ,708	0,8 —

(Résultats exprimés en anhydride sulfurique, par litre.)

(Dans ces expériences, le dosage des sulfates a été effectué par pesée de sulfate de baryte.)

ABDERHALDEN et FUNCK ont confirmé que la méthode de SCHÜLTZ ¹ (oxydation de l'urine par l'acide azotique fumant) donne des résultats trop faibles, ainsi que l'avaient fait observer OESTERBERG et WOLF ². Les modifications données par VILLIERS et DENIGÈS, puis par nous (eau régale), suppriment cet inconvénient.

D'autre part, nous citerons les expériences de GAUVIN ³, faites en employant la méthode de destruction des matières organiques selon MOREIGNE, et effectuant ensuite le dosage des sulfates : 1^o par le procédé barytique ; 2^o par le procédé benzidinique. GAUVIN donne les résultats suivants :

barytique.	DOSAGE		ERREUR
	benzidinique.		
1 ^{er} ,510	1 ^{er} ,409		6,0 p. 100
1 ^{er} ,402	1 ^{er} ,323		5,6 —
2 ^{er} ,111	2 ^{er} ,021		4,3 —

Les chiffres fournis par le dosage benzidinique ont toujours été trop faibles, et l'auteur en attribue la cause à la trop grande concentration de la solution en sels de sodium.

De notre côté, nous avons procédé à des essais parallèles,

1. *Pflügers Arch.*, t. CXX, p. 114.

2. *Bull. Soc. Chim.*, 1908, t. IV, p. 1594.

3. *Bull. Sc. pharm.*, 1914, p. 354.

à propos de la *méthode au mélange fusant* ; voici les résultats que nous avons obtenus :

DOSAGE		DIFFÉRENCE
barytique.	benzidinique.	
1 ^{er} ,613	1 ^{er} ,575	2,3 p. 100
1 ^{er} ,978	1 ^{er} ,942	1,8 —
1 ^{er} ,594	1 ^{er} ,563	1,9 —

(Résultats exprimés en anhydride sulfurique, par litre.)

Ces derniers sont parfaitement acceptables ; l'oxydation par le mélange fusant est donc tout indiquée avant le dosage benzidinique que nous conseillons.

GAUVIN a proposé un procédé de FOLIN modifié, que nous avons eu l'occasion de décrire précédemment¹, comme lui ayant donné des résultats satisfaisants.

Nos recherches s'étant orientées vers cette question, nous avons alors fait une étude comparative des différentes méthodes établies par nous, avec celle de GAUVIN.

Nous donnons ci-après les chiffres obtenus dans nos divers essais.

Prise d'essai = 20 centimètres cubes d'urine.

Calculs : $P = n \times 0,0040 \times 50$ (en SO^3) par litre.

(n représente le nombre de centimètres cubes de soude $\text{N}/_{10}$ écoulés.)

MÉTHODES		DIFFÉRENCE
1 ^{er} échantillon.	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,960
	Chlore gazeux	1 ^{er} ,862
	Eau régale	2 ^{er} ,009
	$\text{ClO}^3\text{K} + \text{HCl}$ (Gauvin). . .	1 ^{er} ,935
2 ^e échantillon.	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,760
	Chlore gazeux	1 ^{er} ,680
	Eau régale	1 ^{er} ,779
	$\text{ClO}^3\text{K} + \text{HCl}$ (Gauvin). . .	1 ^{er} ,719
3 ^e échantillon.	<i>Fusant</i>	2 ^{er} ,085
	Chlore gazeux	1 ^{er} ,196
	Eau régale	2 ^{er} ,082
	$\text{ClO}^3\text{K} + \text{HCl}$ (Gauvin). . .	2 ^{er} ,058

1. Voir procédé GAUVIN, p. 52.

4 ^e échantillon .	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,438	
	Eau régale	1 ^{er} ,460	1,5 p. 100.
	ClO ³ K + HCl (Gauvin) . .	1 ^{er} ,438	0,0 —
5 ^e échantillon .	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,872	
	Eau régale	1 ^{er} ,874	0,1 —
	ClO ³ K + HCl (Gauvin) . .	1 ^{er} ,860	0,6 —
6 ^e échantillon .	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,559	
	Eau régale	1 ^{er} ,572	0,8 —
	ClO ³ K + HCl (Gauvin) . .	1 ^{er} ,544	1,1 —
7 ^e échantillon .	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,927	
	Eau régale	1 ^{er} ,955	1,4 —
	ClO ³ K + HCl (Gauvin) . .	1 ^{er} ,910	0,8 —
8 ^e échantillon .	<i>Fusant</i>	2 ^{es} ,033	
	ClO ³ K + HCl (Gauvin) . .	1 ^{er} ,984	2,4 —

D'après l'examen de ce tableau, on peut voir que les méthodes de GAUVIN, et à l'eau régale, se rapprochent sensiblement, au point de vue des résultats, de celle au *fusant*, et sont parfaitement dans les limites admises. On remarquera, toutefois, que l'oxydation par le chlorate nous a toujours donné des erreurs par défaut, alors qu'au contraire, l'oxydation par les acides nitrique et chlorhydrique tend à donner des chiffres un peu forts.

Poursuivant nos recherches, avec la *méthode au nitrate de magnésie*, que nous estimons être la meilleure, nous l'avons comparée successivement avec celle au mélange fusant et celle de GAUVIN; et nous avons mis en regard les chiffres correspondant aux mêmes échantillons d'urine, donnés par la méthode employant le nitrate de calcium (aux mêmes doses, et selon la même technique qu'avec le nitrate de magnésium).

	MÉTHODES		DIFFÉRENCE
1 ^{er} échantillon .	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,421	
	Nitrate Mg	1 ^{er} ,410	0,7 p. 100
	Nitrate Ca	1 ^{er} ,410	0,7 —
2 ^e échantillon .	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,944	
	Nitrate Mg	1 ^{er} ,932	0,6 —
	Nitrate Ca	1 ^{er} ,926	0,9 —

3 ^e échantillon .	{	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,761	
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,738	1,2 p. 100.
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,735	1,4 —
4 ^e échantillon .	{	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,643	
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,629	0,8 —
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,627	0,9 —
5 ^e échantillon .	{	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,850	
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,837	0,7 —
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,834	1,0 —
6 ^e échantillon .	{	<i>Fusant</i>	1 ^{er} ,513	
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,495	1,1 —
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,494	1,4 —

	MÉTHODES		DIFFÉRENCE	
1 ^{er} échantillon.	{	<i>Gauvin</i>	1 ^{er} ,553	
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,572	1,2 p. 100
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,570	1,1 —
2 ^e échantillon .	{	<i>Gauvin</i>	1 ^{er} ,432	
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,452	1,3 —
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,451	1,2 —
3 ^e échantillon .	{	<i>Gauvin</i>	1 ^{er} ,240	
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,251	0,9 —
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,251	0,9 —
4 ^e échantillon .	{	<i>Gauvin</i>	1 ^{er} ,528	
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,536	0,5 —
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,536	0,5 —
5 ^e échantillon .	{	<i>Gauvin</i>	1 ^{er} ,802	*
		Nitrate Mg	1 ^{er} ,825	1,2 —
		Nitrate Ca	1 ^{er} ,849	0,9 —

(Résultats exprimés en anhydride sulfurique, par litre. Dosage à la benzidine.)

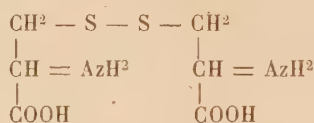
Ainsi, l'on se rendra compte, aisément, des avantages du mode de destruction par le nitrate de magnésie : il est pratique et mène à une destruction complète ; aussi n'hésitons-nous pas à lui donner la préférence sur tous les autres.

Nous avons dit, au début de cette III^e partie, que la destruction des matières organiques de l'urine était l'opération préliminaire qui permettait de faire le dosage du soufre total, afin de calculer ensuite le soufre neutre, par différence entre le soufre total et le soufre acide.

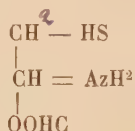
Or, le soufre neutre est constitué en majeure partie par

un composé qu'il peut être utile d'évaluer séparément : nous voulons parler de la cystine.

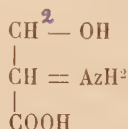
Au point de vue chimique, la *cystine* est un acide aminé, contenant du soufre dans sa molécule, et répondant à la formule :



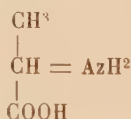
Elle résulte de l'oxydation, avec élimination d'une molécule d'eau, de la *cystéine*, ou *thiosérine* :



la *sérine*, ou *oxyalanine* :



dérivant d'un acide aminé, l'alanine :



ou acide aminopropionique.

Il peut être intéressant, en effet, dans une affection comme la cystinurie, de doser la cystine elle-même. Chaque fois qu'il y a ralentissement des oxydations dans les tissus, une partie de la cystine se retrouve, intacte, dans le rein (calculs) ou dans l'urine (sédiments).

DESMOULIÈRE¹ s'est rallié, pour évaluer l'excrétion de la

1. DESMOULIÈRE, *La Cystinurie*, p. 71, Paris. impr. Levé, 1911.

cystine, à la technique approximative de MESTER, en se basant sur les considérations suivantes : la cystinurie étant considérée comme une inaptitude relative de l'organisme à effectuer la combustion de certains composés, et en particulier à oxyder les composés sulfurés « il est logique d'admettre que la cystine, produit sulfuré incomplètement oxydé, subit des variations dans le même sens que celles des autres produits sulfurés incomplètement oxydés qui l'accompagnent. Alors, dans cet ordre d'idées, les résultats fournis par le procédé MESTER représenteront, non pas des quantités de cystine en valeur absolue, mais bien des valeurs que l'on pourra considérer, jusqu'à un certain point comme proportionnelles à ces quantités. Comme conséquence naturelle de cette conception, on est conduit à dire que les valeurs du rapport du soufre incomplètement oxydé en soufre total devront varier elles-mêmes dans le même sens que les quantités de cystine¹ ».

MESTER admet donc, après de nombreuses expériences sur les urines normales, une proportion de 17 parties de soufre incomplètement oxydé pour 100 parties de soufre total. L'excès, au-dessus de ce chiffre, peut être considéré comme dû à la cystine, que l'on évalue approximativement ; ce dernier procédé est suffisant en pratique.

Rappelons enfin que SALOMON et SAXL² ont proposé d'oxyder le soufre neutre de l'urine au moyen du perhydrol (après élimination du soufre complètement oxydé par le chlorure de baryum), qui donne un sulfate décelable par le baryte.

Les cystinuriques éliminent en général de 0^{gr},50 à 1 gr. de cystine par vingt-quatre heures.

1. MORRIGNE, cité par DESMOULIÈRE. *La Cystinurie*, p. 71. Paris 1911.

2. *Sem. Méd.*, 29 mars 1914, p. 155.

IV

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

De l'ensemble de ce travail, nous dégagerons donc les faits essentiels suivants :

1° Pour le dosage des sulfates dans l'urine, nous avons démontré que la méthode benzidinique apparaît comme la plus rapide et la plus précise, comparée aux autres méthodes volumétriques, dont les meilleures conduisent à des résultats différant encore très sensiblement de ceux fournis par la méthode barytique. (Différences par défaut dans la méthode de Vansteenbergh-Bauzil; différences par excès dans la méthode d'Andrews.) A cet effet, nous avons dosé par la benzidine des solutions de sulfates alcalins, dont le titre exact en acide sulfurique avait été préalablement déterminé par pesée de sulfate de baryte : les différences obtenues ont été pratiquement négligeables (v. p. 38). D'un autre côté, l'écart entre les chiffres fournis par nos essais sur l'urine même n'ayant jamais dépassé la proportion de 1,6 p. 100 (v. p. 38), nous en avons conclu à l'adoption, sans réserves, de la méthode benzidinique (v. p. 25, 30, 34 à 39).

2° Répétant des expériences semblables avec la méthode de MOHR, modifiée par nous (v. p. 33), nous en avons déduit que, à défaut de la précédente, on en pourra faire usage car, quoique moins rapide et peut-être moins élégante, elle est d'une précision suffisante pour un dosage biologique (v. p. 30 à 34).

3° Nous avons montré, par des essais comparatifs, que les sulfo-éthers peuvent être complètement hydrolysés à l'ébullition, pendant un quart d'heure seulement, avec l'acide chlorhydrique employé à la dose de un cinquième du volume de l'urine, le chauffage en tube scellé, ou l'ébullition maintenue successivement une demi-heure, puis une heure et demie (v. p. 44 et 45), nous ayant donné des résultats sensiblement identiques (v. p. 43 à 46);

4° Reprenant enfin la question de la destruction des matières organiques dans l'urine, en vue du dosage du soufre total, nous avons abouti aux conclusions suivantes :

a) On pourra si l'on veut, employer, pour cette destruction, la méthode de GAUVIN (chlorate de potasse et acide chlorhydrique), ou celle indiquée par nous à l'eau régale, toutes deux assez rapides (v. p. 52 et 61).

b) Cependant nous leur préférons, comme certitude, les méthodes de destruction par les nitrates : celle que nous avons établie en utilisant le mélange fusant, est d'une précision absolue, mais il y a un avantage sérieux à lui substituer notre méthode au nitrate de magnésie, tout aussi exacte, et qui exige moins d'attention (v. p. 63 et 64, 64 à 66, 68, 71, 72, 73).

Nous ne saurions, d'ailleurs, trop recommander cette dernière, si l'on veut gagner du temps, car l'oxydation s'accomplit sans que l'on ait besoin de surveiller l'opération, et l'on peut ainsi, aisément, mener de front les trois dosages en une heure environ. Il y a là, on le voit, une appréciable économie de temps, doublée d'une sécurité absolue quant aux résultats de l'analyse.

APPENDICE

MARCHE DE L'ANALYSE POUR LE DOSAGE DU SOUFRE SOUS SES DIFFÉRENTES FORMES, DANS L'URINE

On procédera au dosage des différentes variétés du soufre urinaire dans l'ordre suivant, déjà indiqué par GAUVIN et SKARZINSKI, et qui nous paraît le plus rationnel, pour les raisons exposées ci-devant¹ :

1° Dosage des *sulfates seuls* sur l'urine non modifiée ;

2° Dosage du soufre oxydé total = sulfates + sulfo-éthers, en effectuant l'hydrolyse des sulfo-éthers sur l'urine primitive.

La différence entre 2° et 1°, donnera le chiffre des *sulfo-éthers*.

3° Dosage du soufre total, après destruction des matières organiques.

La différence entre 3° et 2° donnera le chiffre du *soufre incomplètement oxydé*.

1° Dosage des sulfates seuls.

A. MÉTHODE DE GAUVIN-SKARZINSKY. — Dans un verre de 500 centimètres cubes de capacité, 20 centimètres cubes d'urine filtrée et neutralisée. Aciduler par 2 centimètres cubes d'acide chlorhydrique au 1/10°. Ajouter 350 centimètres cubes de la solution suivante :

Solution mère de benzidine . . .	50 centimètres cubes
Eau distillée. Q. s. pour. . .	1 000 — —

¹. Voir pages 43 et 44.

La solution mère de benzidine se préparant de la façon suivante :

Benzidine pure.	40 grammes.
Broyer au mortier avec acide chlorhydrique concentré et pur.	50 centimètres cubes.
Eau distillée. Q. s. pour	1 000 — —

Agiter vigoureusement avec une baguette de verre, et laisser reposer quinze à vingt minutes.

Le précipité est ensuite filtré à la trompe sur un entonnoir de Büchner de 5 centimètres de diamètre, muni d'un disque de toile et d'une couche de pâte de papier, lavée et essorée.

Le verre est rincé avec quelques centimètres cubes de solution benzidinique, et le précipité est lavé sur le filtre avec 5 centimètres cubes d'eau distillée, et essoré à la trompe.

Le précipité est détaché de la toile avec la couche de pâte de papier, et introduit dans une fiole conique de 250 centimètres cubes. Le reste du précipité adhérent à l'entonnoir et au disque de toile est chassé par un jet de pissette ; on ajoute enfin III gouttes de solution alcoolique de phtaléine du phénol à 2 p. 100 et l'on porte à l'ébullition. Après hydrolyse, on titre l'acide sulfurique libéré par addition de soude décinormale, jusqu'à franche coloration rose, persistant quelques minutes à l'ébullition. Soient n centimètres cubes de solution de soude ainsi versés.

La proportion de sulfates exprimée en anhydride sulfurique est, par litre, de :

$$X = n \times 0,0040 \times 50.$$

B. MÉTHODE DE MOHR, MODIFIÉE PAR L'AUTEUR. — 50 centimètres cubes d'urine sont versés dans un vase de Bohême de 250 centimètres cubes, et additionnés de 2 centimètres

cubes d'une solution d'acétate neutre de cuivre à 10 p. 100, et portés à la température de 80°-90°.

Sans filtrer, on ajoute 10 centimètres cubes de solution de carbonate de soude à 25 p. 100, on chauffe de nouveau. On filtre sur papier. On laisse écouler dans le filtrat II gouttes de phénolphthaléine, en solution à 2 p. 100 dans l'alcool à 90°.

On détruit l'excès de carbonate de soude en ajoutant peu à peu de l'acide chlorhydrique au dixième, et portant à 70° pour chasser le gaz carbonique; on s'arrête à l'obtention d'une légère acidité.

On étend alors avec 100 centimètres cubes d'eau distillée, puis on porte à l'ébullition, et l'on ajoute *immédiatement* et sans interrompre l'ébullition, 25 centimètres cubes de solution décimale de chlorure de baryum, et on laisse bouillir une minute environ. Dans la liqueur chaude, et sans filtration préalable, on ajoute immédiatement : 1 centimètre cube d'ammoniaque pure + 3 centimètres cubes de solution de carbonate d'ammoniaque à 10 p. 100.

Le précipité est recueilli, à chaud, sur un entonnoir de Büchner de 5 centimètres de diamètre, muni d'un disque de toile surmonté d'une couche de pâte de papier, bien lavée puis essorée au préalable sur l'entonnoir, et saupoudrée de talc.

Le précipité est lavé sur le filtre jusqu'à ce que les eaux de lavage soient sans action sur le tournesol rougi, bien sensible; on le détache enfin de la toile avec la pâte de papier, et on l'introduit dans une fiole conique de 250 centimètres cubes; le reste du précipité adhérent à l'entonnoir est entraîné au moyen d'un jet de pissette.

Le carbonate de baryum est alors redissous dans 25 centimètres cubes de solution décimale d'acide azotique.

On dose enfin l'excès d'acide azotique, correspondant aux sulfates, par la soude décimale. Soient n centimètres cubes

de soude versés. *L'anhydride sulfurique correspondant aux sulfates seuls sera exprimé par :*

$$X = n \times 0,0040 \times 20, \text{ par litre d'urine.}$$

2° Dosage du soufre oxydé total (sulfates + sulfo-éthers).

Porter à l'ébullition, pendant un quart d'heure, 20 centimètres cubes d'urine filtrée étendue d'un égal volume d'eau, avec 4 centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur, dans une fiole conique de 125 centimètres cubes. Laisser refroidir. Dans le liquide ainsi traité, doser l'acide sulfurique correspondant à la somme : (sulfates + sulfo-éthers) par les méthodes indiquées précédemment pour les sulfates seuls.

*L'acide sulfurique des **sulfo-éthers** sera représenté par la différence entre le chiffre ainsi obtenu et celui de l'acide sulfurique correspondant aux sulfates seuls.*

3° Dosage du soufre total.

A. PROCÉDÉ GAUVIN. — Dans une fiole conique de 125 centimètres cubes, mettre :

Urine filtrée	20 centimètres cubes.
Chlorate de potasse.	0 ^{gr} ,20
Acide chlorhydrique au 1/10° .	20 centimètres cubes.

Porter à l'ébullition, pendant vingt minutes ; enlever ensuite l'excès de chlorate dont l'action oxydante serait nuisible, en ajoutant goutte à goutte, sans interrompre l'ébullition, 1 centimètre cube de solution de sucre à 10 p. 100. Faire bouillir quelques minutes encore, puis laisser refroidir.

Dans l'urine ainsi modifiée, doser l'acide sulfurique correspondant au soufre total, par l'une des méthodes déjà décrites à propos du dosage des sulfates seuls. *L'acide sulfurique correspondant au **soufre incomplètement oxydé** sera représenté par la différence entre le chiffre ainsi obtenu et*

celui de l'acide sulfurique correspondant au soufre complètement oxydé (sulfates + sulfo-éthers).

B. PROCÉDÉ A L'EAU RÉGALE. — Dans un matras d'essayeur, on introduit 20 centimètres cubes d'urine, puis un cristal de permanganate de potasse ; on ajoute ensuite 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique pur, et l'on porte à l'ébullition sous une hotte. A ce moment, on laisse écouler, goutte à goutte, au moyen d'une ampoule à robinet, munie d'un tube coudé et effilé, environ 5 centimètres cubes d'acide nitrique pur. On maintient à une douce ébullition, pendant un quart d'heure, puis on laisse refroidir.

On verse alors le contenu du matras d'essayeur dans une capsule en porcelaine de 125 centimètres cubes, on rince le matras avec quelques centimètres cubes d'eau distillée que l'on ajoute au premier liquide, on évapore au bain-marie, puis on reprend par l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique. On procède alors au dosage du soufre total.

C. PROCÉDÉ AU MÉLANGE FUSANT. — 20 centimètres cubes d'urine sont additionnés de 4 grammes du mélange fusant, de la composition suivante :

Azotate de potassium pur ¹	} à à Parties égales.
Carbonate de potassium, anhydre pur	
Carbonate de sodium, anhydre pur	

et le tout est évaporé à siccité, au bain-marie, dans une capsule de porcelaine de 125 centimètres cubes.

On ajoute de nouveau 8 grammes du mélange fusant, que l'on triture soigneusement avec le résidu de la capsule. On chauffe alors sur le bec Bunsen (ou mieux dans un petit moufle), jusqu'à fusion de la masse qui, après formation d'un charbon, blanchit complètement. On redissout ensuite cette masse dans l'eau bouillante chlorhydrique, jusqu'à plus de dégagement de gaz carbonique. Le liquide, refroidi,

est neutralisé par addition de soude étendue, et, après avoir ajouté 1 centimètre cube d'acide chlorhydrique au 1/10°, on procède au dosage du soufre total.

D. PROCÉDÉ AU NITRATE DE MAGNÉSIE. — 20 centimètres cubes d'urine sont versés dans une capsule de porcelaine de 125 centimètres cubes, et l'on y fait dissoudre 2 grammes de nitrate de magnésie. On chauffe, au bec Bunsen, avec une douce flamme ne touchant pas le fond de la capsule (ou mieux dans un petit four à moufle), et on laisse l'opération s'effectuer d'elle-même. Après formation du champignon, on chauffe plus fortement. La masse charbonne, puis blanchit entièrement. On laisse alors refroidir, on reprend par l'acide chlorhydrique à l'ébullition, on étend d'eau distillée, on neutralise exactement, on ajoute 1 centimètre cube d'acide chlorhydrique au 1/10° et l'on dose ensuite le soufre total.

VU ET BON A IMPRIMER :

Le Président de la thèse,

GRIMBERT.

VU :

Le Directeur de l'École,

H. GAUTIER.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le vice-recteur de l'Académie de Paris,

L. POINCARÉ.

